UNIVERSITÉ DE STRASBOURG – FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931 N° 70

ACTIONS
PRÉVENTIVES ET CURATIVES DE VACCINS ENDOCRINIENS SIMPLES ET SENSIBILISÉS
SUR LA
TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DU COBAYE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 24 juillet 1931
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention PHARMACIE)

par

Georges NEMES
Pharmacien
Titulaire du certificat de Microbiologie et de Parasitologie
de l'Université de Strasbourg

Examinateurs de la Thèse:

MM. A. Sartory, *PROFESSEUR, PRÉSIDENT*
Volmar, „ } *JUGES*
Lobstein, „ }

STRASBOURG
IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1931

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG – FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931 N° 70

ACTIONS

PRÉVENTIVES ET CURATIVES DE VACCINS ENDOCRINIENS SIMPLES ET SENSIBILISÉS

SUR LA

TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DU COBAYE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 24 juillet 1931
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention PHARMACIE)

par

GEORGES NEMES
Pharmacien
Titulaire du certificat de Microbiologie et de Parasitologie
de l'Université de Strasbourg

Examinateurs de la Thèse:

MM. A. SARTORY, *PROFESSEUR, PRÉSIDENT*

VOLMAR „ } *JUGES*
LOBSTEIN „ }

STRASBOURG
IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1931

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. JADIN, *Doyen*, O ❋, I ⚲, ⚷
A. SARTORY, *Assesseur*, C. ❋, I ⚲, O ⚷
CUVIER, *Secrétaire*.

PROFESSEURS

MM.	JADIN, O ❋, I ⚲, ⚷	Pharmacie chimique.
	A. SARTORY, C. ❋, I ⚲, O ⚷	Bactériologie.
	LAVIALLE, I ⚲, ⚷	Botanique.
	LABORDE, ❋, I ⚲	Chimie organique
	VOLMAR, I ⚲	Analyse chimique.
	LOBSTEIN, ❋, ⚷, I ⚲	Matière médicale.
	GUILLAUME, ❋, ⚷, ⚲	Pharmacie galénique

PROFESSEUR HONORAIRE

M. BRÆMER, ❋, I ⚲, O ⚷

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	LABORDE, ❋, I ⚲	Chimie biologique.
	GUILLAUME, ❋, ⚷, ⚲	Zoologie.
	VOLMAR, I ⚲	Chimie minérale.
	LOBSTEIN, ❋, ⚷, I ⚲	Hydrologie et Hygiène.
	BRÆMER, ❋, I ⚲, O ⚷	Législation et Déontologie
	LAPP, A. ⚲	Physique.
	COLLARD, I ⚲, ⚷	Toxicologie.
	R. SARTORY	Cryptogamie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	LAPP, A. ⚲	Chimie pharmaceutique.
	COLLARD, I ⚲ ⚷, ...	Chimie et Physique.
	BOHN.....	Histoire naturelle.
	R. SARTORY	Bactériologie et Parasitologie.

A MES PARENTS

Témoignage d'affectueuse reconnaissance

A MONSEIGNEUR DIDIER BALTAZAR D.D.D.I.

Évêque de Debreczen (Hongrie)

Hommage très respectueux

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548008_0010

A Monsieur A. SARTORY

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
Commandeur de la Légion d'Honneur
Président du Jury de ma Thèse

En témoignage de vive admiration
et de respectueuse gratitude

A mes Maîtres
de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

A Monsieur JACQUES MEYER

Assistant à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

En gage de ma vive reconnaissance

INTRODUCTION

L'idée de la vaccination qui n'était pas encore basée sur des données scientifiques, mais pour ainsi dire toute intuitive, date de l'époque où régnait MITHRIDATE, le roi du PONT (de 123 à 63 av. J.-C.) ; comme il se croyait entouré de lâches ennemis, il prenait pour s'y accoutumer différentes drogues toxiques à doses croissantes, pensant ainsi éviter les suites mortelles d'un empoisonnement.

JENNER a publié en 1798 ces observations : les femmes qui trayent les vaches atteintes de cow-pox (variole de la vache) sont immunisées contre la variole humaine. Le duc de ROCHEFOUCAULD-LIANCOURT a introduit cette méthode de vaccination en France en 1800.

Depuis cette époque les savants se sont mis au travail pour tenter de vacciner contre d'autres maladies que la variole et tout naturellement ils ont recherché, dès la découverte du bacille de KOCH, une méthode efficace, pouvant amener la prévention ou la guérison de la tuberculose au moyen de la vaccination.

Le but de la vaccination est de provoquer l'immunité, c'est-à-dire la qualité que présentent certains individus ou certaines classes animales de résister victorieusement et cela dans les mêmes conditions d'expérience à une infection mortelle pour d'autres. Cette résistance peut être spontanée, naturelle ou acquise. L'immunité acquise doit être subdivisée en immunité antitoxique et immunité bactéricide. Les microbes pathogènes agissent de deux façons : par intoxication (eux-mêmes restent à la porte d'entrée et ne nuisent que par leurs toxines secrétées et diffusées dans la circulation) ou par infection (eux-mêmes passent dans la circulation).

Dans les maladies dues à l'intoxication, on arrive à l'immunisation active par l'injection du bouillon de culture pathogène filtré, en provoquant la formation d'antitoxines

dans le sang des animaux traités : ces antitoxines sont sans action sur le bacille envisagé, mais injectées à des animaux neufs, elles leur confèrent une immunité temporaire passive à l'égard des toxines correspondantes.

Dans les maladies infectieuses, l'injection du bouillon filtré de la culture pathogène ne provoque pas la formation d'antitoxines, mais bien des précipitines, bactériolysines, etc., éléments bactéricides.

Comment devons-nous concevoir l'immunité antituberculeuse ?

La tuberculose est une maladie toxi-infectieuse due aux bacilles de la tuberculose appartenant à plusieurs variétés et pourvus d'une enveloppe très résistante : d'après les travaux remarquables de Goris (1) et Lobstein (2), cette enveloppe est constituée par des graisses et des cires.

Selon Löwenstein, (3) si le germe pathogène arrive dans un organe sensible, c'est la maladie qui éclate, au contraire, si l'organe, dans lequel il s'est installé n'est pas sensible, c'est l'immunité qui en résulte.

Mais pour le bacille de la tuberculose, tous les organes sont sensibles, exception faite pour les muscles striés et pour la thyroïde : l'explication de ces faits n'est pas encore donnée et, d'ailleurs, ces constatations ne sont pas absolues.

Allen Krause (4) considère l'immunité antituberculeuse comme une fonction ou une conséquense de l'hypersensibilité en ce sens que les réactions locales déterminées par les surinfections dermiques ou souscutanées (phénomène de Koch) retardent la dispersion des germes d'épreuves.

Goris, Lobstein nous ont montré la composition chimique, Paris-Auclair (5) les produits toxiques des corps bactériens, Prudden et Hodenpyl ont extrait par la méthode de Nencki une protéine (alcali-albumine) laquelle interviendrait dans la formation des tubercules en altérant les leucocytes.

La barrière constituée par l'enveloppe cireuse graisseuse est incriminée la plus part du temps en ce sens, qu'elle rend l'accès au protoplasma du bacille très difficile et c'est à ce phénomène qu'on attribue souvent l'insuccès de la vaccination antituberculeuse.

Les bacilles tués gardent leurs propriétés pathogènes : les bacilles auxquels on a enlevé l'enveloppe cireuse graisseuse par divers solvants organiques, se montrent aussi toxiques que les bacilles non traités.

Par toutes ces considérations nous voyons que le bacille de la tuberculose présente beaucoup de caractères mystérieux et que la nature le protège efficacement contre ses ennemis.

C'est ainsi que les essais poursuivis dans le but de vacciner contre ce fléau de l'humanité ne sont que des tâtonnements et c'est un hasard qui nous mettra sur la bonne voie.

Dans la partie historique de notre Travail nous nous permettrons de décrire les tentatives qui ont été faites jusqu'à nos jours dans le but de rendre apte le bacille tuberculeux à être employé comme vaccin : tout récemment c'est aux organes animaux que les chercheurs se sont adressés.

Notre cher Maître, Monsieur le Professeur A. Sartory, nous a donné le sujet de cette thèse : à savoir, quelle est l'action de l'extrait pancréatique de l'oie, de la poule sur les bacilles de la tuberculose humaine et bovine (souche Vallée) d'une part et sur la tuberculine brute de Koch in vitro et in vivo de l'autre. Son expérience et sa compétence acquise au cours de travaux antérieurs (96) portant sur la préparation et l'action des produits opothérapiques nous ont été d'un grand secours. Que notre cher Maître reçoive ici l'expression de nos vifs remerciements et l'assurance de notre profond dévouement.

Notre travail a dépassé le cadre et le but posé par notre cher Maître, étant donné qu'il nous a paru nécessaire, après avoir constaté l'effet des extraits pancréatiques sur la croissance et les propriétés morphologiques du bacille tuberculeux d'un côté, sur la marche et l'évolution de la maladie tuberculeuse chez le cobaye de l'autre, de modifier dans le sens des résultats obtenus au cours de ces recherches, la préparation du vaccin sensibilisé d'après notre technique primitive.

Nous avons pu étudier l'effet d'un séro-vaccin composé de sérum antituberculeux autogène et d'un vaccin pancréatique sensibilisé et précipité que nous avons préparé suivant

les conceptions expérimentalement établies au cours de notre travail. A l'aide de ce séro-vaccin nous avons alors effectué nos expériences d'immunisation sur le cobaye à titre préventif et curatif.

Nous adressons nos vifs remerciements à Messieurs les Professeurs VOLMAR et LOBSTEIN qui ont bien voulu faire partie du Jury de cette thèse.

Nous présentons l'expression de notre gratitude à Monsieur René SARTORY, chef des travaux pratiques, chargé de cours à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg et à Monsieur Jacques MEYER, assistant à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, pour les conseils, qu'ils nous ont donnés avec tant de complaisance, et la contribution amicale apportée à ce travail.

HISTORIQUE

Pour ne pas être trop long, nous n'allons signaler ici que les travaux les plus importants effectués dans le but de tuer, modifier ou atténuer les bacilles de la tuberculose : ce qui ne veut pas dire que les autres travaux doivent être négligés.

A titre de curiosité, pour montrer les différentes idées originales qui ont guidé les chercheurs, nous mentionnerons le mémoire de METCHNIKOFF (7). Ce savant isola une lipase dans le sang de *Galeria Malonella*, ferment destructible à 75° ne passant pas à travers la bougie de CHAMBERLAND et possédant la propriété de lyser les bacilles de KOCH.

ROUGE (8), l'élève de MASSOL, étudia dans sa thèse l'action de la lipase d'un *Hyménomycète*, le « *Lactarius Sanguiflurus* » sur les bacilles de KOCH.

BOQUET (9) et NÈGRE ont préparé un extrait méthylique de bacille de KOCH connu sous le nom d'*antigène méthylique*. Ses essais sur des animaux de laboratoire (et d'après plusieurs auteurs même chez l'homme) furent concluants et les résultats sont encourageants. C'est d'ailleurs l'antigène méthylique qui remplace l'antigène syphilitique dans la réaction de BORDET-WASSERMANN adapté par CALMETTE et MASSOL pour le diagnostic de la tuberculose.

Theobald SCHMITH (10) vaccina au moyen de bacilles tués par la chaleur; LŒFFLER (11) et MATSDA préparèrent un vaccin en desséchant les bacilles à froid puis en les chauffant à 70° pendant 9 à 15 jours. MARAGLIANO (12), Nathan RAW (13), LANGER (14) tentèrent de vacciner au moyen de bacilles tués à l'autoclave.

P. UHLENHUTH (15) a tué les bacilles à 100° par la vapeur fluante, ou bien il les a chauffés à sec pendant 30 minutes à 150°. Cet auteur, se basant sur les résultats de ses expériences conclut, qu'il n'est pas possible de produire l'immunité au moyen de bacilles morts.

Parmi les moyens physiques c'est à l'insolation que s'adressa Di Donna (16) : Victor et Mme Henry eurent recours aux rayons ultraviolets et H. Schrotter (18) à l'émanation de radium.

Lœffler (19) tenta d'atténuer les bacilles de Koch par la *Papaïne* (ferment végétal du *Carica Papaya* L.) et par le ferment contenu dans le *Drosera carnivora* L.

Livierato (20), J. Bartel (21), Fontes, (22) mettaient en contact les bacilles de Koch avec des protéases et des lipases produits par les lymphocytes des ganglions ou de la rate : Les bacilles étaient atténués mais dépourvus de propriétés vaccinantes.

Parmi les substances chimiques, Moussue (23) et Goupil, Calmette (24) et Maurice Breton firent macérer les bacilles de Koch dans l'eau de *Javel* à 10 % : les bacilles ont perdu par ce traitement leur acido-résistance et se désagrégèrent, mais ne sont pas vaccinants.

H. Vallée (25) a tenté d'atténuer la virulence des bacilles par *l'eau iodée* à 1/400.

Rappin (26) *(de Nantes)* a ajouté du Na F aux bacilles desséchés et du sérum contenant beaucoup d'anticorps.

H. Noguschi (27) traita les bacilles par l'oléate de sodium, ammoniaque, oléate de Neurin ou par l'acide oléique et la soude seule.

La *Néurine* et la *Choline* ont été employées ainsi que l'*ovolécithine* par Deycke (28) et Much : la *monochlorhydrine* par Salimbeni (29).

F. Lévy (30), F. Blumenthal, Marxner ont utilisé la glycérine, l'urée, la galactose : en partant de ces données, la Maison Scheering a lancé son produit appelé « *Tebean* » destiné à la médication antituberculeuse.

Toujours dans le but d'atténuer la virulence des bacilles de Koch, Lindenmann (31) a employé la *lécithine:* L. Rabinovits (32) le *formol*, P. Uhlenhuth (33) l'*antiformine* à 15-20% ; les bacilles ainsi traités seraient inoffensifs pour les souris mais non vaccinants.

Karl von Ruch (34) s'adressa à l'*eau phéniquée* à 4 %.

Deycke et Much (35) ont observé qu'en traitant les bacilles tuberculeux par l'*acide lactique*, les substances protoplasmiques qui sont Gram positives et acidophiles, disparaissent et qu'après centrifugation le culot et le liquide obtenus, contiennent des antigènes isolés, auxquels correspondent des anticorps déterminés. Ces auteurs concluent que l'immunité antituberculeuse serait due à l'action combinée de ces divers corps.

Calmette (36), Guérin, etc. ont traité les bacilles de Koch par divers solvants organiques (acétone bouillant, toluol, éther, chloroforme, tétrachlorure de carbone, éther de pétrole) pour enlever les enveloppes cireuses graisseuses. Ces auteurs ont observé la diminution de la toxicité, mais aucune protection contre l'infection artificielle.

G. Dreyer (37) a préparé un produit connu sous le nom de « *Dialypte* » qui est obtenu de la façon suivante : on traite les bacilles de Koch par le formaldehyde à 40 % et on les chauffe ensuite au-bain marie pendant 4 heures, à 100°, puis on les filtre et on épuise pendant 24 heures par l'acétone à 65°. Les bacilles perdent leur acido-résistance et la colorabilité par le *Gram :* à ce moment on sèche les bacilles et on les émulsionne dans du sérum physiologique stérile. Un cc. de cette émulsion contient 0,2 de bacilles secs dégraissés.

Nous ne nous permettrons pas d'apporter ici des critiques sur les travaux mentionnés plus haut : nous dirons simplement que d'après de nombreux auteurs compétents, les bacilles tuberculeux traités par des moyens qui ne modifient pas trop profondément le protoplasma, ont la propriété de conférer une légère résistance de courte durée contre l'infection artificielle.

Maffuci (38) différencia en 1889 la tuberculose des oiseaux de celle des mammifères et il a vacciné les bovidés avec les bacilles du type aviaire et inversement les oiseaux avec les bacilles du type bovin : le résultat de ces expériences a été négatif.

Cavagnis (39), Gransher ont injecté des bacilles de Koch vivants à doses progressivement croissantes aux animaux de laboratoire : mais les résultats ne furent pas encourageants.

Behring (40) a commencé en 1902 la « *Jennerisation* » qui consiste à inoculer à deux reprises par voie intraveineuse aux veaux âgés de 6 mois avec un intervalle de six semaines ou de 3 mois 4 milligrammes, puis 20 milligrammes de bacilles secs provenant d'une souche humaine entretenue depuis 6 ans ½ au laboratoire. Les rapports que les commissions d'enquête ont publiés concluent que la méthode de Behring confère une résistance appréciable à l'infection artificielle ou provoquée par cohabitation, mais cette résistance est de courte durée.

Koch, Schütz, Weenfeld (41) ont vacciné au moyen de « *Tauruman* » , produit à base de bacilles humaines conservés en bouillon glycériné.

Klimmer (42) a employé « l'*Antiphymatol* », vaccin mixte, qui est formé de bacilles humains chauffés à 52-53° et de bacilles humains accoutumés à vivre dans la Salamandre.

S. Arloing (43) a tenté de vacciner au moyen de bacilles humains en cultures homogènes.

Mac Fadyean, Sheather Edouard et Minet (44) ont repris les expériences de Maffuci et ces auteurs concluent à l'inefficacité de sa méthode.

A. Mœller (45) a employé le produit connu sous le nom de « *Blindschleichen-Vakzine* » qui est à base de bacille acido-résistant de l'orvet.

Friedmann (46) a préparé un vaccin en partant des bacilles acido-résistants de tortue : les commissions d'enquête ont donné un avis défavorable sur sa méthode.

H. Vallée et Louis Guignard ont tenté de vacciner au moyen de bacilles sensibilisés par le sérum du cheval (méthode de Besredka).

A. Rodet, Garnier, etc. (48) ont essayé de vacciner avec les ganglions non caséifiés du cobaye.

Bruschettini (49) traite les cobayes et les lapins avec une émulsion non résorbable : faite en mélangeant les bacilles de Koch au chloroforme et à la poudre de quartz en filtrant sur coton, puis séchant et introduisant le tout dans du sérum physiologique. Les animaux avaient reçus au préalable et à 12 heures d'intervalle de la farine de banane (Aleuron de

Mellin's Jovel) par voie sous-cutanée. Il sacrifie les animaux et recueille l'exsudat dans le chloroforme, y ajoute de la poudre de quartz et du sérum physiologique. C'est ce produit complexe qui constitue son vaccin.

H. Vallée (50) a vacciné les jeunes bovidés avec les bacilles d'origine équine en les mélangeant avec de l'huile de vaseline tenant en suspension de la poudre de talc ou de grès porphyrisé. Les résultats seraient encourageants et en 1926 on a décidé de recommencer les expériences.

K. Shiga (51) a atténué les bacilles de la tuberculose par les couleurs d'aniline, salvarsan et cuivre, trypaflavine ou de rouge neutre : les cultures étaient peu virulentes pour les cobayes. L'auteur a employé ces couches, ainsi que d'autres rendues résistantes à l'érythrosine comme séro-vaccin. Selon lui, on arrive par ce moyen à limiter les lésions et obtenir la sclérification.

R. Arima (52) a utilisé dans le but d'atténuer la virulence du bacille de Koch une saponine extraite de « *Sapindus mukoroji japonica* » qui empêche la formation des graisses et des cires.

C'est à Ferran (53) que nous devons la nouvelle conception connue sous le nom de « *Théorie de la Bactérie Alpha* » qui, si elle se vérifie par des expériences nombreuses et concluantes, bouleversera profondément la question complexe de la tuberculose. Selon l'auteur, l'agent de la tuberculose est un saprophyte d'origine intestinale ressemblant au *Bactérium Coli* et qu'il nomme bactérie « *Alpha* » : celui-ci serait susceptible de se transformer sous diverses influences (que l'on ignore) en bacilles de Koch. Tant que le bacille « *X* » reste non acido-résistant, il est incapable de produire des lésions tuberculeuses, mais il peut engendrer des lésions inflammatoires. On peut l'utiliser comme virus-vaccin. Depuis 1919 le « vaccin anti-alpha » tyndallisé pendant une demi-heure a été essayé en *Espagne* et en *République Argentine*. Les résultats obtenus furent positifs, mais non concluants parce qu'on ne peut pas les considérer comme démonstratif et absolus. En effet la contamination à l'Hôpital des enfants de *Buénos-Ayres*, pourvu d'une installation hygiénique ultra-moderne, est presque impossible.

En 1910 VAUDREMER (54) a démontré que l'*Aspergillus fumigatus* modifie profondément le bacille de KOCH. Son développement à l'état de parasite sur un voile de bacille tuberculeux poussé sur du bouillon glycériné, détruit la majeure partie du voile et la tuberculine du milieu. Les bacilles typiques sont remplacés par de nombreuses zooglées ovulaires, composées de granules cyanophiles. Tous ces granules prennent le *Gram*. Aucun des éléments poussés sur gélose ou dans le liquide aspergillaire n'arrive à déterminer la tuberculose expérimentale typique du cobaye.

En 1924 VAUDREMER a fait les premières applications de son vaccin à l'homme. Le traitement consistait en injections sous-cutanées d'une émulsion faite avec les fragments d'un voile de bacilles de KOCH qu'une macération d'un mois dans le liquide aspergillaire filtré avait modifié sans le détruire. Mais ces émulsions de voile présentent le gros inconvénient de produire souvent un abcès tardif au point d'inoculation, surtout avec les produits récemment préparés. Pour éviter la formation de ces abcès, l'auteur a remplacé l'émulsion de voile par une émulsion de culture et il la prépare de la façon suivante :

Huit souches de bacilles de KOCH (4 humaines, 3 bovines et 1 équine) ensemencées sur gélose depuis quatre jours sont émulsionnées dans l'eau physiologique. Les émulsions mélangées sont chauffées pendant une demi-heure à 56° et réparties en ampoules. Celles-ci sont chauffées une deuxième fois à 56° pendant 20 minutes. La stérilisation est contrôlée par des ensemencements sur gélose.

Des recherches de cet auteur il résulte, que le traitement n'est actif que sur les bacilles jeunes qui, n'ayant pas encore atteint la phase acido-résistante, sont vulnérables.

Sans avoir la prétention d'être complet, nous citerons encore les produits qui sont employés dans la thérapeutique : l'« *Helpine* » (émulsion glycérinée de lécithine), les vaccins de SCHRŒDER, FERNIKOFF, *corps immunisants* de SPENGLER *(Immuns Körper original)*.

CALMETTE (55) est l'auteur de la vaccination antituberculeuse connue sous le nom de vaccin « *B. C. G.* ». Les résultats

favorables obtenus par de nombreux auteurs sont dus à la présence de bactéries vivantes et atténuées introduites dans l'organisme.

Nous traiterons la tuberculino-thérapie dans un chapitre ultérieur.

Nous ne mentionnerons pas la chimiothérapie de la tuberculose, puisqu'elle dépasse le cadre de notre travail. Les résultats en sont cependant jusqu'aujourd'hui peu satisfaisants.

Si nous examinons attentivement la multitude des moyens physiques, chimiques et biologiques que les chercheurs ont mis en œuvre pour aboutir à une méthode efficace et inoffensive permettant de prévenir ou de guérir la tuberculose, nous ne devons pas nous étonner si dans les dernières années les savants se sont adressés aux différents organes d'animaux, toujours dans le même but.

F. Arloing, L. Thevenot et A. Joveraud (56) partant de l'action lipodiérétique du poumon (étudié par Roger et Binet) ont essayé d'augmenter la résistance des cobayes en les traitant par des injections d'extraits pulmonaires de poule : chez certains animaux du tapioca à 2 % a été adjoint à l'extrait de poumon. Les animaux, ont été éprouvés par inoculation de bacilles virulents ordinaires ou de bacilles virulents macérés pendant 48 heures à la glacière dans du suc pulmonaire.

L'injection d'extrait pulmonaire s'est montrée peu active, par contre l'adjonction de tapioca renforce sensiblement la résistance de cet animal. Le tapioca seul n'agit pas : pour que l'augmentation de la résistance se manifeste, il faut des doses élevées de suc pulmonaire associées à l'injection de tapioca.

A. Hanns (57) a observé que l'administration de thyroïdine n'a aucune influence sur l'évolution de la tuberculose expérimentale du cobaye.

L'injection sous-cutanée d'extrait de pancréas de poule d'après J. Bonnamour et P. Delore (58) n'a aucune action favorable, ni défavorable sur la tuberculose expérimentale du cobaye. L'injection d'insuline a assuré dans l'ensemble une survie très légère : elle paraît avoir provoqué une augmentation du nombre des îlots pancréatiques endocriniens.

Lopo de Carvalho et Ferreira de Mira (fils) (59) ont traité les bacilles tuberculeux humains par des extraits de pancréas de poule pendant 48 heures à 0° : 1 milligramme de ces bacilles a été inoculé sous la peau de la cuisse à 45 cobayes, alors que 13 animaux témoins recevaient le même poids de bacille tuberculeux non traité. La survie des cobayes traités était plus considérable que celle des témoins, mais ces animaux ainsi préparés n'ont présenté aucune immunité à l'égard d'une autre infection tuberculeuse.

P. F. Armand-Delille (60) a publié son mémoire sur l'action favorable d'extraits spléniques sur certaines formes involutives de la tuberculose pulmonaire chez l'enfant.

J. W. Howard (61) a constaté l'action lytique et digestive des extraits pancréatiques, spléniques et ganglionnaires du porc sur le bacille de Koch. Il donnait à des porcs deux fois par semaine par voie buccale pendant un an des doses alternées de bacilles vivants et morts : il a ainsi obtenu au bout de six mois des extraits, qui digèrent les bacilles de Koch, ceux-ci perdent leur acido-résistance, se déforment et se détruisent. Pour observer la lyse, on met le bacille de Koch en contact avec l'extrait à 40° pendant 30 à 60 heures. La rate fournit les extraits les plus actifs, puis le pancréas, enfin les ganglions. Les inoculations au cobaye ont montré que les bacilles avaient été rendus non pathogènes, puisque les cobayes traités n'ont présenté aucune lésion. Cette propriété de lyser les bacilles de Koch s'accentue par l'immunisation et au bout d'un mois elle diminue.

Tomor(62) a traité les malades atteints de tuberculose par des extraits pancréatiques en leur administrant par voie buccale un produit préparé par le « *Schweizer Sérum- und Impf-Institut Bern* » et il conseille de contrôler attentivement au cours du traitement le fonctionnement de la parathyroïde, de l'hypophyse, de l'épiphyse et des capsules surrénales.

L'auteur attribue l'action favorable de son traitement non spécifique — expérimenté depuis une vingtaine d'années dans les dispensaires antituberculeux de Budapest — à l'antagonisme qui existe entre le pancréas et la glande thyroïde : le métabolisme de l'organisme est ralenti, l'état général des malades se relève et, par ce fait, leur résistance

naturelle augmente. Ce fait mérite d'être tout particulièrement retenu, vu la fonction iodogénétique marquée de la thyroïde et on devrait admettre que par la diminution de la sécrétion thyroïdique diminue la teneur en iode dans l'organisme. Pourtant l'iode est jusqu'à présent considéré comme l'agent chimiothérapeutique le plus actif contre la tuberculose. Cependant la théorie de Tomor paraît être confirmée par les observations de Coulaud (63). En effet, cet auteur a constaté que l'hyper-fonctionnement de la thyroïde aggrave la maladie, par contre l'hypofonctionnement de la même glande ralentit l'évolution de la tuberculose.

J. Auclair (64) part dans ses expériences de la conception suivante : la poule et les oiseaux en général possèdent une immunité absolue contre la tuberculose humaine (?) et croit démontrer la présence dans leurs pancréas d'une substance vaccinante spécifique. La préparation de son vaccin est la suivante : On place dans des conditions appropriées un mélange d'un extrait hydro-glycériné de pancréas de poule et de bacilles tuberculeux humains vivants ou tués par la chaleur. Le vaccin a pour résultat de créer dans l'organisme un foyer de destruction du bacille de Koch. Si le sujet qui reçoit le vaccin est sain, on obtiendra la vaccination préventive, par contre, si le sujet est déjà malade, on produira la vaccination de guérison. Les effets de la vaccination sont perceptibles dès la fin du premier mois qui suivra l'injection. Les expériences portèrent sur des cobayes et des lapins. En répétant les injections de son vaccin à ces animaux par voie sous-cutanée il arrive à les protéger contre une infection d'épreuve faite avec *une émulsion très diluée (à peine louche) de bacilles de Koch vivants et virulents.*

L'auteur a appliqué sa méthode à des malades atteints de tuberculose cutanée et les effets auraient été favorables.

RECHERCHES PERSONNELLES

Dans cette partie de notre travail nous envisageons l'ensemble des recherches que nous avons poursuivies : tout d'abord dans le premier chapitre nous allons décrire la technique que nous avons adoptée pour la préparation de nos vaccins, de nos extraits pancréatiques et les milieux de culture employés .

Le deuxième chapitre comprend l'exposé de recherches relatives aux ferments et aux examens microscopiques et culturaux effectués au moyen de nos vaccins.

Le chapitre III traite l'action de nos vaccins sur les bacilles tuberculeux humains in vitro et in vivo, ainsi que l'action de la chaleur humide sur les bacilles tuberculeux (souche humaine).

Le chapitre IV comprend l'étude de l'action de notre vaccin O. C. sur la tuberculine brute de KOCH in vitro et in vivo.

Le chapitre V est consacré à la réaction de CALMETTE-MASSOL (déviation du complément) effectuée au moyen de notre vaccin O. C. La détermination de la valeur antigénique de notre même vaccin figure aussi dans ce chapitre.

Dans le chapitre VI nous décrivons la méthode de LÖWENSTEIN, dont nous nous sommes servi dans le but d'obtenir l'hémoculture tuberculeuse.

Le chapitre VII est réservé à l'action des extraits pancréatiques seuls ! (de l'oie, de la poule) sur la tuberculose expérimentale du cobaye.

Le chapitre VIII relate les expériences dans lesquelles nous avons recherché l'action de nos vaccins O. C., P. V., P. C. sur la tuberculose expérimentale du cobaye. Ce chapitre est divisé en trois parties : la première traite des expériences

effectuées au moyen de vaccins O. C. (constitués par l'extrait pancréatique de l'*oie*, les corps bactériens *chauffés* (souche humaine) et les exotoxines totales); la deuxième partie est consacrée à l'étude de l'action de notre vaccin P. V. (constitué par l'extrait pancréatique de la *poule* et les corps bactériens (souche humaine) *vivants*); la troisième partie comprend l'étude de notre vaccin P. C. (constitué par l'extrait pancréatique de la *poule*, les corps bactériens (souche humaine) *chauffés*.

Dans le chapitre IX nous décrivons la préparation de nos séro-vaccins sensibilisés en partant du pancréas, de mouton et les expériences biologiques effectuées sur ce vaccin.

Nous résumons les résultats obtenus au cours de ces recherches dans nos conclusions générales.

CHAPITRE I

Milieux de cultures.

Les bacilles de la tuberculose du type humain ont été cultivés sur le milieu de J. MEYER employé couramment dans le *Laboratoire de Bactériologie et de Cryptogamie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*. Ce milieu est une préparation très simple et donne de cultures très luxuriantes et des récoltes abondantes. Nous donnons ci-dessous sa composition et le mode opératoire pour sa préparation.

On pèle des pommes de terre et on les découpe en fragments minces.

On fait cuire une partie des fragments de pomme de terre dans deux parties d'eau, puis on laisse macérer 3 à 4 heures et on les filtre sur toile. On ajoute au filtrat à parties égales son volume de bouillon glycériné à 6 % + 2 % de glucose. Le pH de ce milieu est 7,2. On répartit en tubes ou en ballons, on bouche avec du coton et on stérilise à 120° pendant 30 minutes à l'autoclave.

Le milieu que nous avons employé pour les bacilles de la tuberculose du type bovin (souche VALLÉE) est le même que celui que nous avons indiqué plus haut; cependant le pH y est fixé à 6,8.

Préparation du vaccin O. C.

Les pancréas de l'oie ont été prélevés aussi aseptiquement que possible et découpés en petits fragments. On les place dans un ballon stérile contenant de la glycérine anhydre et on bouche au coton : on effectue la macération à l'étuve à 37° pendant 24 heures et ensuite on dilue le contenu du ballon au moyen d'eau distillée stérile pour avoir une solution isotonique.

D'autre part, nous avons chauffé une culture sur milieu solide de bacille tuberculeux humain au bain-marie pendant 10 minutes à l'ébullition. Après ce temps nous l'avons filtrée à travers une bougie CHAMBERLAND et nous avons pesé de ces corps bactériens restés sur le filtre, une quantité telle qu'elle corresponde à un pour mille exprimé en poids. Le milieu filtré a été ajouté au macéré hydroglycériné de pancréas d'oie dans la proportion de dix pour mille exprimé également en poids, en tenant compte de l'isotonie. Les bactéries pesées à l'état humide ont été ajoutées aussi au macéré. Nous avons continué la macération en plaçant le tout à l'étuve à 37° pendant quatre jours en ayant soin de l'agiter fréquemment pour assurer l'homogénéité. Après ce temps nous avons filtré le contenu du ballon à travers une toile stérile et les fragments de pancréas étaient exprimés en tordant fortement la toile. Le liquide obtenu a été filtré de nouveau à travers du papier filtre n° 598 SCHLEICHER et SCHULL à deux reprises. Après ces manipulations le liquide d'une coloration jaune foncée, limpide constitue notre vaccin O. C.

Préparation du vaccin P. V.

Le mode opératoire de ce vaccin est identique à celui que nous avons indiqué pour la préparation du vaccin O. C. avec la seule différence qu'à la place des corps bactériens chauffés, nous avons ajouté les bacilles vivants provenant d'une culture identique âgée de trois semaines. La différence existant entre le vaccin O. C. et P. V. réside encore dans le fait qu'ici nous n'avons pas ajouté le liquide provenant de la filtration du milieu. Ce vaccin est d'une coloration jaune clair.

Préparation du vaccin P. C.

Ce vaccin se prépare comme le vaccin P. V. avec l'unique différence que les bacilles provenant de la filtration d'une culture liquide âgée de trois semaines étaient mis dans de l'eau stérile en suspension et nous les avons chauffé au bain-marie à l'ébullition pendant 10 minutes.

Préparation de nos extraits pancréatiques seuls utilisés au cours des expériences décrites dans le chapitre VII.

Au cours de la préparation de nos vaccins et en même temps nous avons prélevé une certaine quantité du macéré hydro-glycériné et après l'avoir passé à travers une toile, nous l'avons filtré sur papier filtre n° 598 SCHLEICHER et SCHULL. Ce sont ces liquides filtrés qui constituent nos extraits pancréatiques employés au cours de nos expériences décrites dans le chapitre VII.

CHAPITRE II.

Recherches des ferments.

C. Oppenheimer (65) définit les ferments de la manière suivante : une diastase est un catalyseur, c'est-à-dire une substance, capable d'accélérer et non de provoquer une réaction qui ne se serait produite que très lentement en dehors de sa présence. Les ferments agissent d'une manière spécifique, c'est-à-dire favorisent tel ou tel type de réaction chimique ou même la transformation particulière d'un corps de structure bien déterminée. Nous savons aujourd'hui que l'analogie des ferments et des catalyseurs minéraux peut être poussée très loin et que le pouvoir fermentaire appartient à des substances minérales qui sont à l'état colloïdal.

Les ferments des Protides et leurs dérivés. Recherche de la trypsine.

D'une façon générale les ferments des protides scindent les molécules en azote, carbone, alors que les lipases détachent des molécules les restes oxygénés. Suivant les conceptions actuelles les ferments des protides comprennent :

1° les protéases, qui par leur action sur les matières albuminoïdes dédoublent ces dernières en molécules plus simples : albumose, polypeptides et acides-aminés (péptase, tryptase, papaïne).

2° les péptidases ou éréptases, qui attaquent le groupement CO—NH, donnent comme produit de dédoublement des polypeptides et finalement des acides aminés.

3° le lab ferment ou chymase;

4° la thrombase (Rettger) dont l'existence en tant que ferment est douteuse;

5° les amidases comprennent l'uréase, l'arginase, l'hippuricase et la guanase.

Il nous a semblé spécialement intéressant de rechercher parmi les ferments protéolytiques, la trypsine (dont la présence dans le pancréas a été signalée depuis longtemps) à cause de son importance capitale pour la vitalité de la cellule animale. Comme nous le verrons plus loin, elle a contribué à la dégradation de la tuberculine brute de Koch.

Nous avons mis en évidence la trypsine par une réaction classique qui consiste à faire agir ce ferment sur le blanc d'œuf cuit. Nous avons constaté après sept jours de séjour à l'étuve à 37° la liquéfaction du blanc d'œuf et le liquide filtré a donné les réactions du *Biuret*, *xanthoprotéique*, d'*Adamkiewitz*, dues aux albumoses.

La méthode indiquée par la Pharmacopée Française nous a permis aussi de mettre en évidence ce ferment (digestion de la fibrine).

Recherche de l'amylase.

Musculus et V. Mehring (66) et d'autres auteurs ont signalé ce ferment dans le pancréas. Pour le rechercher nous avons eu recours à la méthode indiquée par la Pharmacopée Française (décoloration de l'eau iodée colorée en bleu par l'emploi d'amidon). Cette réaction nous a fourni un résultat positif.

Recherche de la lipase.

Par suite des notions récemment acquises sur les lipides' le cadre des lipases proprement dites s'est considérablement élargi (Schæffer) (67). Il comprend actuellement en outre des lipases les ferments des glycérides, les ferments qui dissocient les éthers gras supérieurs et les éthers de la cholestérine; enfin il convient d'y ajouter les ferments mal connus qui dissocient les éthers de la lécithine et des autres phosphatines, la phosphatase, la chlorophyllase, la tannase et la sulfatase. Nous nous sommes limités à la recherche de la lipase. Nous avons fait une série d'essais qui permettait de confirmer la présence d'une assez forte quantité de lipases dans nos vaccins. La méthode que nous avons adoptée, est due à Henriot et Camus (68) : elle consiste à faire agir la lipase sur la monobutyrine de la glycérine neutre en solution

titrée et en dosant l'acide butyrique mis en liberté par NaOH N/10 (1 cc. d'une solution monobutyrique à 1 %).

10 cc. de nos vaccins ont mis en liberté une quantité d'acide butyrique telle que pour le neutraliser nous avons employé 1,2 cc. NaOH N/10.

Examens microscopiques et culturaux.

Nous avons effectué, en partant du vaccin O. C., P. M. et P. V. des recherches microscopiques dans le but de savoir si au cours de la préparation de nos vaccins les bacilles de la tuberculose sont passés à travers les filtres et quelle était l'action de nos vaccins sur le bacille.

A cet effet, après avoir centrifugé les vaccins, nous avons effectué, au moyen du culot provenant de la centrifugation, des frottis et nous les avons colorés par la méthode de Ziehl-Nielsen. Dans chaque vaccin, nous avons pu démontrer la présence d'éléments acido-résistants. Cette constatation correspond avec celle mentionnée par A. A. Dayet et William M. Gibbs (69); ils ont fait agir le suc pancréatique de chien sur le bacille de Koch et ont vérifié la présence des formes filamenteuses de souffrance, mais ces même éléments étaient colorables par la méthode de Ziehl-Nielsen.

Mais ce qui nous a particulièrement frappé, ce sont les différentes formes évolutives des corps bactériens constatables au cours de ces expériences. Nous avons répété ces examens microscopiques chaque semaine et à partir de la deuxième semaine qui a suivi la préparation de nos vaccins, il nous a été possible d'observer les premiers stades de la mutation de nos souches bactériennes.

Nous avons assisté ainsi à une transformation morphologique du bacille tuberculeux : évolution qui commence au stade bacillaire et passe progressivement par la forme filamenteuse, ramifiée et en massue. Plus tard, ces éléments subissent une sorte de lyse, les filaments se disloquent, il se forme des sortes de zooglées ovalaires et granuleuses. Toutes ces formes évolutives, nous donnèrent l'impression qu'à un certain moment nous avions affaire à des formes mycosiques rappelant les actinomyces. Il apparaît une certaine proportion de forme bactérienne non acido-résistante à structure banale,

ces éléments se colorent facilement par les couleurs d'anilines et prennent le *Gram*.

Comme nous le verrons plus loin dans le chapitre VIII, ce sont des granules à la limite de la visibilité qui parsèment le champ des préparations ; nous allons les incriminer d'ailleurs pour les lésions que nos cobayes ont présentées à la suite des injections faites au moyen de nos vaccins O. C., P. M., P. V. Nous pouvons prévoir un cycle évolutif du bacille tuberculeux par nos expériences biologiques et par nos frottis, à savoir que les bacilles tuberculeux sous l'action de nos vaccins O. C., P. M., P. V. (pour une cause que nous ignorons) se transforment et passent du stade bacillaire classique aux formes les plus diverses (forme filamenteuse, ramifiée, granuleuse,etc.)

Pétrone (1894) a été le premier qui a classé le bacille de Koch entre les mycomycètes et les schizophycètes.

Metchnikoff le plaça dans la classe des Oospora et il a créé un genre spécial, le genre Sclérothrix.

Vuillemin (70) dans son ouvrage récent s'associe à l'opinion de Metchnikoff et dénomme le bacille de Koch « *Sclérothrix Tuberculosis Metchnikoff* ».

Lehmann et Neumann ont proposé le nom de « *Mycobactérium Tuberculosis* » ; C. Johnes celui du *Tuberculomyces*. Ledoux-Lebard les classent parmi les *Cladothrix*.

En août 1930 au congrès de la tuberculose à *Hambourg* (71) la question de la variabilité et de la mutation du bacille tuberculeux figurait à l'ordre du jour.

Parmi les savants qui y ont assisté Fontès *(Rio de Janeiro)*, Vaudremer *(Paris)*, Play Armengole *(Barcelone)*, Luksch *(Prague)*, Petroff *(New-York)* ont admis que le bacille tuberculeux est capable de se transformer sous diverses influences en formes granuleuses, filamenteuses, etc. (voir aussi la théorie de Ferran à la page 9).

Much *(Hambourg)* a prétendu que ces phénomènes sont facilement explicables en se servant de sa théorie connue sous le nom de « *Much'sche Granula* ». Cet auteur considère les parties transparentes, non colorables par la méthode de Ziehl-Nielsen et ressemblant à des granules, comme étant constituées par des éléments filtrables et qui reproduisent

dans les tissus vivants les formes bacillaires normales virulentes.

Le même auteur recommande de cultiver le bacille de KOCH sur des plantes pour l'obtention des formes granuleuses.

Nous avons d'ailleurs pu facilement cultiver nos formes de mutation sur milieu de SABOURAUD glucosé et sur milieu de jus de pomme de terre ordinaire. L'aspect des colonies était au début celui de forme mamelonnée et plus tard la culture a pris un aspect velouté, lisse et brillant.

La tendance actuelle porte à regarder le bacille tuberculeux comme la forme d'un champignon : le stade bacillaire ne représenterait en effet qu'un stade d'évolution, la phase virulente.

CHAPITRE III.

a) Dans le but de vérifier l'action de nos vaccins sur les bacilles de KOCH in vitro, nous avons fait usage de plusieurs milieux solides et liquides et nous y avons ajouté quelques cc. de nos vaccins. Sur ce substrat on a ensuite ensemencé le bacille de KOCH : nous avons placé les cultures à l'étuve à 37° et nous les avons examinées macroscopiquement chaque jour pendant quatre mois : à aucun moment nous n'avons pu observer l'apparition de voîle (le signe habituel de la luxuriance) : les frottis colorés par la méthode de ZIEHL-NIELSEN nous ont montré au bout d'une semaine les formes de souffrance décrites plus haut.

b) A ce moment nous étions fixé sur un point : nos vaccins empêchent toute culture caractéristique in vitro. Par contre, nous avons pu observer les phénomènes mentionnés déjà antérieurement. Il se forme tout d'abord des colonies irrégulières peu saillantes, irrisées blanchâtre. Plus tard, on remarque la formation d'un tapis homogène formant un enduit blanchâtre gluant, adhérant au substrat humide, ressemblant au *Bactérium Coli*. Ces cultures repiquées sur milieu neuf glycériné n'évoluent plus. Mais elles ne forment que des colonies rares et maigres qui restent stationnaires et semblent s'autolyser, si on les conserve à + 37°.

Retirées de l'étuve au bout de quatre semaines et conservées à la température du laboratoire, ces colonies sont très résistantes tout en conservant leur aspect primitif. Mais replacées au bout de cinq à six mois à l'étuve à + 37°, ces cultures commencent bientôt (15 jours environ) à amorcer leur développement et si on prend la précaution de les repiquer à ce moment sur milieu glycériné, jus de pomme de terre, on assiste à la réapparition de culture typique du bacille tuberculeux.

Nous avons trouvé intéressant d'examiner ce qui se passe, si nous inoculons au cobaye des bacilles tuberculeux vivants modifiés par l'action de nos vaccins in vitro. Dans ce but nous avons placé dans des tubes stériles 0,10 gr. de bacilles de Koch vivants (pesés à l'état humide) et 2 cc. de vaccin et disposé le tout à l'étuve à + 37° pendant quatre jours. Le cinquième jour nous avons inoculé le contenu des tubes aux cobayes n° 34 et 35 par voie sous-cutanée.

Le cobaye 34 meurt en 32 jours : l'autopsie nous a montré l'intégrité absolue des organes, le système lymphatique était attaqué, mais il n'y avait pas d'abcès au point d'inoculation.

Le cobaye 35 vit après 200 jours et garde son poids pendant ce temps, il supporte bien une grossesse et donne naissance à des cobayes jeunes et sains.

c) L'action de la chaleur humide sur les bacilles de Koch. Dans les expériences que nous relatons à présent, notre but était d'examiner l'action du chauffage à l'ébullition poursuivi pendant 10 minutes sur les bacilles de Koch introduits dans nos vaccins O. C. et P. C.

Chaque fois que nous avons préparé nos vaccins O. C. et P. C. nous avons inoculé simultanément aux cobayes de ces bacilles chauffés ; on a ainsi constaté que tous les cobayes ont succombé à la suite de cette inoculation après un délai plus long que les témoins inoculés avec du bacille. Cette injection sous-cutanée de bacilles de Koch, modifiés par la chaleur, a produit un abcès qui en s'ouvrant, donnait issue à du pus crémeux, mais les ganglions lymphatiques correspondant ne se montraient aucunement tuméfiés, contrairement à ce que l'on constate toujours après l'inoculation sous-cutanée de bacilles vivants. En outre il nous a été donné de constater dans un grand nombre de cas chez ces cobayes rendus malades au moyen de bacilles chauffés, de véritables granulomes dans les poumons, de même qu'une forte infiltration leucocytaire et lymphocytaire de la cavité pleurale.

CHAPITRE IV.

L'action de notre vaccin O. C. sur l'ancienne tuberculine de Koch (Hœchst) in vitro et in vivo.

Robert Koch (72) (1891) a découvert la tuberculine en étudiant les lésions produites par les cadavres de bacilles tuberculeux. Il a constaté que les effets provoqués par les injections sous-cutanées de bacilles morts sont tout différents chez les cobayes déjà tuberculeux. Alors que les cobayes sains supportent en présentant un simple abcès local des doses fortes de ces bacilles morts — de très petites quantités de ceux-ci suffisent à tuer les cobayes tuberculeux en 6 à 48 heures. Si la dose est assez faible pour ne pas entraîner la mort, on voit se produire au point d'inoculation une zone de nécrose cutanée, et si on répète les injections de doses faibles, l'état général des animaux s'améliore; les ulcères d'inoculation se cicatrisent, les ganglions tuméfiés diminuent de volume.

Koch supposa que cette action est due à une toxine mise en liberté par les cadavres de bacilles tuberculeux et conséquemment à cette idée, il réussit à isoler et étudier la toxine tuberculeuse dénommée par lui : *Tuberculine.*

Les tuberculines de l'*Institut Pasteur de Paris* sont préparées avec des mélanges de culture bovine et humaine dans la proportion de 3/4 + 1/4.

Les « *Behringwerke* » de *Marburg* fabriquent ces substances en employant 2/3 souches humaines + 1/3 souche bovine.

Kuhne (73) a déterminé la composition chimique du précipité obtenu par l'alcool (deutero-albumoses, acro-albumose, peptone, tryptophane, corps analogue à l'indol).

Ruppel (74) a étudié l'endo-toxine bacillaire et attribua l'action toxique de la tuberculine à un corps qu'il nomme *tuberculosine*.

André Jousset (75) pense que la tuberculine accompagne les acides-aminés.

Howard Mueller (76) rechercha la nature protéique de la fraction de la tuberculine responsable des réactions spécifiques chez les cobayes tuberculeux.

D'après Calmette (77) tous les succédanés de la tuberculine de Koch doivent leur propriété aux endo- et exotoxines, que renferme la tuberculine initiale de Koch.

E. Long et F. Seibert (78) arrivent à incriminer aussi la molécule protéique de la tuberculine dans la réaction thermique.

Sous l'action des ferments protéolytiques, la tuberculine ne donne plus la réaction cutanée.

D'après Kinghorn et d'autres auteurs, les sucs digestifs, la trypsine en milieu alcalin, la *papaïne* en milieu neutre, la *pépsine* en milieu acide, le suc digestif de *Drosera (Carnivora) Rotundifolia* détruisent assez rapidement l'action de la tuberculine.

E. Seibert (79) a observé la même action destructrice de la trypsine sur la partie non soluble et non coagulable de la tuberculine.

Ignace Schiller (80) a étudié l'action des bactéries protéolytiques sur le bacille de Koch.

Lobstein (2) a trouvé dans les milieux de culture chimiquement définis les produits suivants qui étaient sécrétés par les bacilles de Koch : protéines (albumine, globuline), parmi les protéoses il a décelé des albumoses primaires et secondaires, un corps contenant le noyau pyrrolique (peut-être tryptophane, tyrosine ou indol).

Hopkins (74) (New-York) a réussi à cristalliser la partie albuminoïde, pourvue d'une toxicité thermogénétique de la tuberculine.

Si la toxicité est due aux substances capables d'être dégradées par les ferments contenus dans nos vaccins, nous

avons pensé qu'en faisant agir ceux-ci sur la tuberculine brute, nous devions obtenir un produit complexe moins toxique.

Et, en effet, les expériences suivantes nous ont donné raison.

Nous avons mélangé une partie de tuberculine brute de Koch (*Alt-tuberculine « Hœchst »*) à trois parties de vaccin. Le mélange a été placé à l'étuve à 37° pendant quatre jours : à ce moment, nous avons fait l'expérience biologique suivante :

1° Les cobayes 7/a, 7/b, tuberculisés depuis 28 jours au moyen de 0,06 mgr. de bacille de Koch, reçoivent 2 cc. du mélange tuberculine vaccin.

Nous avons noté la température pendant deux jours à des intervalles de trois heures. Le plus grand écart entre la température normale était 0,5°.

2° Les cobayes 26, 30, 34, 38, 43, 55, tuberculisés depuis 41 jours au moyen de 0,25 mgr. bacilles de Koch chauffés (à l'ébullition pendant 10 minutes) reçoivent 7 cc. de vaccin. Quatre jours après, on administre à ces mêmes animaux, le mélange tuberculine + vaccin) : la tuberculine injectée correspond à 0,75 cc.

Plusieurs cobayes tuberculeux témoins reçoivent 0,75 cc. de tuberculine par voie sous-cutanée.

On observe la température pendant 48 heures toutes les 3 heures.

Les témoins meurent 30-35 heures après l'injection.

Les cobayes 26, 30, 34, 38, 43, 55 présentent une ascension thermique dans la quatrième heure qui suit l'injection, variant de 1,3° à 2,2°.

La température retourne à la normale sept heures après l'injection.

Pour expliquer l'apparition de ces phénomènes , nous sommes obligés de dire quelques mots sur les conceptions nouvelles des phénomènes de l'allergie et de l'anaphylaxie dans le processus tuberculeux.

Ces recherches ont été principalement élucidés par les travaux de Zinsser (81) et son école, de Dœrr (82), de Tomcsik (83) et Kurotschkin et de Lancefield (84).

Nous savons aujourd'hui que les antigènes sont des corps complexes qui doivent être composés de deux facteurs : l'un représentant l'élément fixateur de l'anticorps, désigné par LANDSTEINER (78) sous le terme de «*haptène*», et l'autre l'élément immunisant. Ce terme est aujourd'hui entré dans le langage scientifique courant.

Nous aurons l'occasion de revenir plus en détail sur cette question. Pour le moment, nous mentionnerons seulement qu'il faut distinguer dans la composition des antigènes un principe nucléo-protéïnique, et un principe hydrocarboné désigné par les *Anglais* comme « *Carbonhydrate résidu* ». Pour les *Allemands* comme « *Carbonhydrat Restfraction* ».

ZINSSER d'un côté, AVERY (85) de l'autre, ont pu séparer ces deux principes des extraits bactériens, par voie chimique.

ZINSSER a cru que les protéïnes bactériennes seuls sont responsables des réactions cutanées retardées, mais on sait aujourd'hui d'après les travaux les plus récents que les produits résultant du bacille tuberculeux désséché, et ne donnant même plus une réaction positive au moyen de « *Ninhydrine* » (1) sont capables de tuer le cobaye tuberculeux et engendrent encore chez l'homme tuberculeux une intra-dermo-réaction positive. La tuberculine composée de produits protéïques et de polysaccharides mises en évidence par AVERY, MILLER (87) et d'autres savants américains constitue donc un antigène par excellence.

Il n'est d'autre part pas douteux que par l'action de notre vaccin pancréatique sur la tuberculine in vitro, nous avons dégradé les principes nucléo-protéïniques et que la solution (vaccin + tuberculine) utilisée comme réactif déchaînant, était uniquement constituée par le résidu hydrocarboné « le haptène ».

D'après les travaux de TOMCSIK et KUROTSCHKIN, nous savons aujourd'hui qu'il est possible de sensibiliser un cobaye par un immunsérum de lapin préparé par injection des

(1) *Ninhydrine (I. G. Farbenindustrie Höchst).* Synonime : *Triketohydrindenhydrat :* C 6 H 4 (CO) 2 C (OH) 2 P. M. 178 - Cristaux incolores, solubles dans l'eau, alcool. La solution aqueuse réduit à chaud la solution de FEHLING. Selon ABDERHALDEN et H. SCHMIDT ce réactif se colore en bleu en présence des albuminoïdes, péptones, polypéptides, acides aminés alpha. On ajoute à la solution à examiner une à 2 gouttes d'une solution de Ninhydrine (0,1 gr. dans 30—40 cc. H 20) et on chauffe : apres refroidissement apparait la coloration bleue en milieu neutre. En milieu acide, c'est une coloration rouge qui apparaît en présence des corps énumérés plus haut. En milieu alcalin pas de réaction.

bactéries totales, et de réaliser une réaction déchaînante positive typique d'anaphylaxie par les résidus hydrocarbonés ou haptène. Par contre, il a été impossible jusqu'à présent de réaliser le phénomène de choc anaphylactique au moyen de ces mêmes haptènes, chez le cobaye préparé directement par les bactéries totales.

Ce fait est en pleine concordance avec les résultats observés au cours de nos expériences : ayant affaire dans la première partie de nos recherches à des cobayes sensibilisés par tuberculisation directe, nous n'avons pas réussi à déclencher une réaction anaphylactique typique au moyen de notre haptène tuberculinique.

D'autre part, si nous examinons plus spécialement l'évolution des symptômes dans la deuxième partie de notre expérience, nous constatons, que nos cobayes tuberculeux supportaient très bien l'injection de notre vaccin, ces mêmes cobayes traités quatre jours plus tard au moyen de haptène (tuberculine dégradée) ont présenté nettement les symptômes d'un choc anaphylactique non mortel.

L'intervalle très court — de quatre jours seulement — entre la dose préparante constituée par le vaccin et entre la dose déchaînante (tuberculine dégradée), semble démontrer qu'il s'agit dans ce processus d'une sensibilisation passive plutôt que d'une sensibilisation active.

Les résultats de ces expériences sont en concordance avec ceux obtenus par Bail (88) d'un côté, qui a sensibilisé au moyen d'une bouillie de tissu tuberculeux non caséifié, et de l'autre avec ceux de Zinsser et Muller qui ont préparé des cobayes avec les extraits filtrés de tissus tuberculeux de lapin ou de cobaye. Ces derniers auteurs ont utilisé comme substance déchaînante la tuberculine brute et la période latente était au cours de leurs expériences de quatre fois 24 heures.

Afin de vérifier, si le vaccin injecté à des cobayes malades par voie sous-cutanée garde encore cette propriété neutralisante vis-à-vis de la tuberculine après quatre jours, nous avons effectué l'expérience suivante : deux cobayes tuberculeux depuis 41 jours (par l'infection artificielle au moyen de bacilles chauffés) reçoivent 7 cc. de vaccin — quatre jours après, ces deux cobayes préparés, ainsi qu'un témoin tuber-

culeux reçoivent 0,75 cc. de tuberculine brute par voie sous-cutanée. Les trois animaux meurent dans les 36 heures qui suivent l'inoculation.

Dans le but de vérifier autant que possible le changement survenu dans la tuberculine par l'addition de nos vaccins, nous avons eu recours au procédé suivant : Nous avons dosé les acides aminés par la formoltitration de Sörensen dans la tuberculine brute de Koch et dans nos vaccins (précipitation de la tuberculine par l'alcool absolu, puis dissolution du précipité par de l'eau distillée et dosage dans la solution alcoolique et dans la solution aqueuse des acides aminés).

Connaissant maintenant la quantité d'acides aminés préexistant, nous avons mélangé trois parties de vaccins à une partie de tuberculine brute de Koch : le mélange a séjourné à l'étuve à 37° pendant quatre jours et à ce moment nous avons effectué la formoltitration sur ce mélange dans les mêmes conditions que précédemment.

L'augmentation de la quantité d'acides aminés préexistants ne pouvait provenir que par l'action protéolytique de notre vaccin sur le complexe protéïnique de la tuberculine.

En effet, pour neutraliser les acides aminés préexistants dans la tuberculine et dans les vaccins (avant le mélange), nous avons employé 7,4 cc. NaOH N/10. Après avoir effectué le mélange dans les proportions mentionnées plus haut, il nous a fallu 18,6 cc. NaOH N/10 pour neutraliser les acides aminés totaux.Donc les acides aminés formés par la décomposition de la tuberculine sous l'action de nos vaccins correspondent à 8,8 cc. NaOH N/10. Par conséquent, notre vaccin a décomposé le complexe protéïnique de la tuberculine. Ce fait a été vérifié par le résultat négatif obtenu au moyen des réactions spécifiques des protéïdes, effectuées sur notre mélange tuberculine et vaccin.

Sahli (*Berne* (90) suppose que la dégradation de la tuberculine se fait par les stades suivants : tuberculine, tuberculinotoxine, tuberol, pyrine, deutero-albumine et acides aminés. Comme les étapes de la dégradation moléculaire des albuminoïdes sont très difficiles et jusqu'ici à peu près impossibles à saisir chimiquement, nous nous somme adressés au dosage des acides aminés, croyant ainsi saisir le terme final de la dégradation des matières protéïniques.

CHAPITRE V

Réaction de Calmette-Massol effectuée au moyen de l'antigène méthylique de Boquet et Nègre et au moyen de notre vaccin O. C.

Valeur d'antigène du vaccin O. C.

Pour la recherche des anticorps spécifiques dans le sérum tuberculeux, CALMETTE (89) et MASSOL ont adopté la réaction de BORDET-WASSERMANN : ces auteurs ont remplacé l'antigène syphilitique par l'antigène de BOQUET et NÈGRE ou par l'antigène de BESREDKA.

Nous avons voulu examiner la valeur d'antigène de notre vaccin O. C. et dans ce but nous nous sommes servis de la méthode CALMETTE-MASSOL au sérum chauffé.

Pour effectuer nos expériences, nous nous sommes servi de l'alexine du cobaye, des globules rouges du mouton, du sérum tuberculeux humain et d'une dilution d'antigène de BOQUET et NÈGRE.

1° *Préparation de l'alexine du cobaye.*

Par ponction cardiaque du cobaye nous avons recueilli son sang : le sang a été défibriné dans un verre à pied par agitation au moyen d'une baguette en verre. Après centrifugation nous avons séparé le sérum qui nous a servi comme alexine. Pour s'en servir on prépare des dilutions au moyen de sérum physiologique stérile. Nous reviendrons sur le titrage de l'alexine plus loin.

2° *Préparation d'hématies lavées du mouton.*

Nous avons recueilli le sang de mouton à l'abattoir dans un flacon stérile contenant des perles de verre. Par agitation prolongée nous avons défibriné le sang et réparti dans des tubes de centrifugeuse en ayant soin de marquer avec une étiquette le niveau d'affleurement. Après centrifugation nous avons rejeté le sérum limpide surnageant et

nous avons ajouté au culot du sérum physiologique stérile à 9 pour mille. On centrifuge de nouveau et on lave ainsi à deux ou trois reprises les hématies de mouton. Après le dernier lavage on les émulsionne dans du sérum physiologique stérile en quantité strictement convenable pour amener l'affleurement au niveau primitif du sang défibriné. C'est cette « émulsion-mère » qui nous a servi après l'avoir diluée à 5 % dans du sérum physiologique stérile.

3° *Le sérum tuberculeux* est fourni par le sang des malades atteints de tuberculose. Après la prise du sang on le laisse coaguler et on décante le sérum. On le chauffe à 55 ° pendant une demi-heure au bain-marie.

4° *L'antigène méthylique* est fourni par l'*Institut Pasteur* en solution alcoolique. On le dilue à 1/20 au moyen d'eau salée.

5° *Le sérum du lapin anti-mouton* est fourni aussi par l'*Institut Pasteur :* on doit le diluer au moment du besoin dans la proportion de 1/10 au moyen de sérum physiologique. 0,1 cc. de cette dilution représente deux unités pour les besoins de la séro-réaction.

Technique.

1er Temps : titrage du complément par rapport au système hémolytique.

2e Temps : titrage des anticorps tuberculeux.

Premier Temps :

Dans le but de savoir à quelle concentration l'alexine doit être employée au cours de la réaction ultérieure, on effectue un titrage préliminaire et ainsi on sera fixé sur la dose minima d'alexine à employer pour produire l'hémolyse.

Dans une série de six tubes on ajoute des doses croissantes d'alexine à la dilution de 1/50 à partir de 0,1 cc. : ensuite des doses décroissantes du sérum physiologique à 9 pour mille à partir de 1,9 cc. On place les tubes à l'étuve à 37° pendant une heure.

Après ce temps on ajoute dans chaque tube 1 cc. de globules rouges du mouton sensibilisé (pour les sensibiliser on mélange à 1 cc. de globules rouges lavés et 0,1 cc. sérum du

lapin anti-mouton dilué au 1/10) et on porte à l'étuve à 37° pendant une demi-heure. Au bout de ce temps on lit les résultats et on prend comme dose minima d'alexine la quantité, qui a produit l'hémolyse totale. Dans nos essais c'était à une concentration de 6 %. Nous avons dilué notre alexine au moyen de sérum physiologique normal dans la proportion de 1,2 %, c'est-à-dire la quantité double de la dose minima active, puisque la moitié d'alexine est détruite pendant l'opération.

Deuxième Temps :

La méthode de Calmette-Massol au sérum chauffé comporte trois séries de tubes : la première série de cinq tubes reçoit une quantité fixe, soit 0,2 cc. du sérum à éprouver, inactivé par chauffage pendant une demi-heure à 55° et une quantité fixe d'antigène méthylique, soit 1 cc. de la dilution au 1/20. La deuxième série de trois tubes (témoins sérum) reçoit la même quantité de sérum que les tubes de la première série, soit 0,2 cc. La troisième série de trois tubes reçoit (témoins antigènes) 1 cc. d'antigène méthylique au 1/20.

Dans chaque tube des trois séries on ajoute ensuite des doses croissantes d'alexine (1,2 %) à partir de la dose minima (en espèce 0,1 cc.). On complète partout au volume total de 2,5 cc. avec de l'eau salée physiologique à 8,5 pour mille et on agite soigneusement chaque tube pour assurer l'homogénéité du mélange. Les supports contenant les trois séries de tube sont placés à l'étuve à 37° pendant une heure, puis on ajoute dans chaque tube une goutte d'émulsion d'hématies lavées et une quantité de sérum hémolytique représentant dix fois la dose minima active. Les tubes sont de nouveau agités, reportés à l'étuve à 37° et examinés au bout d'une demi-heure. Les seuls sérums considérés comme positifs sont ceux, qui fixent nettement une quantité d'alexine supérieure à la quantité d'alexine déviée dans les tubes témoins ne contenant que du sérum à éprouver. Si un volume V du sérum à étudier dévie N doses minima d'alexine, le rapport N/V exprime le nombre de doses d'alexine fixé par l'unité de volume du sérum, en espèce le centimètre cube.

Nous avons effectué à plusieurs reprises cette méthode et chaque fois que nous avons trouvé des anticorps tuberculeux dans le sérum des malades, nous avons remplacé dans la réaction l'antigène méthylique par notre vaccin O. C.

Dans ce but, nous avons titré notre vaccin O. C. au point de vue de son pouvoir anti-complémentaire et de sa valeur d'antigène.

1° *Titrage du pouvoir anti-complémentaire (absorbant ou empêchant).* — Il faut déterminer la dose à laquelle l'antigène fixe à lui seul la quantité d'alexine employée pour produire l'hémolyse. Pour opérer ce titrage, nous avons dilué le vaccin O. C. au moyen de quantités croissantes d'eau physiologique : 1/5, 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50, etc. On prend une quantité fixe de chacune de ces dilutions, soit 1 cc. qu'on met en présence de doses croissantes d'alexine à partir de la dose minima. On complète au volume total de 2,5 cc. avec de l'eau salée physiologique, et après avoir agité les tubes on les porte à l'étuve à 37° et on les laisse séjourner une heure. Au bout de ce temps de contact, on ajoute le système hémolytique (une goutte d'émulsion de globules du mouton et dix doses minima de sensibilisatrice hémolytique). On agite chaque tube et on reporte les supports à l'étuve à 37° pendant une demi-heure. Au bout de ce temps, on les retire et on lit les résultats. Dans nos recherches ultérieures, ayant pour but d'effectuer la réaction de déviation du complément, nous avons employé la dilution au 1/5 de vaccin O. C. parce que c'est à cette dilution que notre réactif n'a pas exercé de pouvoir empêchant en présence de la dose minima d'alexine.

2° *Titrage de la valeur d'antigène du vaccin O. C.*

A cet effet il faut disposer d'un sérum type dont on connaît la richesse en anticorps. De deux antigènes le meilleur sera celui qui permettra de déceler la plus grande quantité d'anticorps dans un sérum donné. Nous avons effectué ce dosage en faisant croître les quantités d'alexine en présence de 1 cc. de vaccin O. C. dilué au 1/5. Nous avons vérifié ainsi que la valeur d'antigène du vaccin O. C. à la dilution de 1/5 est comparable à celle de l'antigène méthylique : l'hémolyse s'est produite toujours à la même concentration et au bout du même temps.

CHAPITRE VI

L'hémoculture de bacilles tuberculeux selon la méthode de E. Löwenstein (85).

Il est souvent arrivé que nos cobayes tuberculisés depuis trois semaines et vaccinés préventivement, n'ont pas réagi à la tuberculine injectée par voie sous-cutanée à dose mortelle. Nous n'avons pas voulu sacrifier les animaux à ce moment et c'est pour cette raison que nous nous sommes adressé à leur sang pour y rechercher les bacilles tuberculeux. La méthode de LÖWENSTEIN — que nous allons décrire en détail — nous a permis de déceler les bacilles tuberculeux dans le sang de ces animaux anergiques à la tuberculine.

La composition du milieu et le mode opératoire de LÖWENSTEIN sont les suivants :

Phosphate monopotassique 0,4 %; Sulfate de magnésium 0,04 % ; Citrate de manganèse 0,1 %; Asparagine 0,6 %; Glycérine 2 %.

On prélève 120 cc. de cette solution aqueuse et on y ajoute 6 gr. de fécule de pomme de terre, on chauffe le mélange au bain-marie pendant 2 heures. On attend jusqu'à ce que le mélange se refroidisse à 50° et on y ajoute 4 œufs et 10 cc. d'une solution stérile de rouge Congo à 2 % et on filtre sur gaze et on introduit le tout dans des tubes. On stérilise par tyndallisation (comme le sérum du cheval).

La technique pour l'obtention de l'hémoculture est la suivante : on prélève 10 cc. de sang dans 3 cc. d'une solution de citrate de soude à 10 %. On centrifuge aseptiquement, on rejette le plasma et on dissout les globules rouges dans de l'acide acétique stérile et on centrifuge de nouveau (l'es-

sentiel est d'éliminer complètement l'hémoglobine, qui gène et empêche le développement de la culture). Pour ensemencer, on mélange le culot avec une solution d'acide sulfurique à 15 % pendant 5 minutes, puis on y ajoute de l'eau distillée stérile et on centrifuge de nouveau. On rejette le liquide surnageant et on ensemence le culot au moyen d'une pipette stérile.

CHAPITRE VII

L'action des extraits pancréatiques (de l'oie et de la poule) sur la tuberculose expérimentale du cobaye.

Nous avons injecté à des cobayes sains (préventivement), à des cobayes tuberculeux (rendus malades par les bacilles tuberculeux humains et du type VALLÉE) (curativement), nos extraits pancréatiques dans les mêmes conditions d'expérience, que celles que nous avons suivies dans nos recherches décrites dans le chapitre VIII.

L'augmentation du poids était de règle, de même pour la survie, mais nous n'avons jamais constaté qu'à la suite d'injections d'extraits pancréatiques les animaux avaient résistés à l'infection d'épreuve, ni qu'ils avaient guéri.

Donc nous nous croyons en droit de conclure que l'injection d'extraits pancréatiques ne protège pas les cobayes contre l'infection artificielle pratiquée au moyen de bacilles de KOCH humains vivants ou par les bacilles tuberculeux bovins vivants (souche VALLÉE).

CHAPITRE VIII

Avant d'aborder en détail l'exposé de nos expériences effectuées sur les cobayes dans le but de rechercher l'action préventive et curative de nos vaccins sur la tuberculose expérimentale, nous tenons à décrire les symptômes cliniques du cobaye infecté artificiellement par les bacilles tuberculeux (souche humaine).

Lorsqu'on introduit sous la peau de la cuisse du cobaye des bacilles tuberculeux d'origine humaine les résultats immédiats de cette inoculation sont d'abord absolument nuls. Dans la suite apparaît une légère inflammation locale avec un peu d'œdème. Après 6 à 10 jours, en palpant la région, on perçoit dans l'aine du côté correspondant au point inoculé un ganglion augmenté de volume dur, roulant sous le doigt. Ce ganglion atteint les dimensions d'une petite noisette. L'animal reste bien portant en apparence et peut même augmenter de poids. Suivant la virulence, l'âge et la quantité des bacilles injectées d'une part et l'âge, le poids du cobaye de l'autre on assiste au bout d'un temps qui varie d'après les conditions expérimentales, au début de l'amaigrissement ; la température s'élève et plus tard la mort succède à un état de cachexie profonde. L'autopsie montre des lésions qui caractérisent la tuberculose généralisée : le ganglion initial énorme est entouré de tissu œdémateux et renferme du pus crémeux. Le foie est hypertrophié et présente des multitudes de masses jaunâtres arrondies, remplies de pus. La rate est six à huit fois plus grosse qu'à l'état normal et couverte de masse jaunâtre contenant du pus caséeux. Les reins sont décolorés : les capsules surrénales sont énormes. Les poumons présentent des tubercules. Les ganglions de tout le système lymphatique sont hypertrophiés et les animaux présentent toujours un chancre au point d'inoculation.

Nous nous sommes basés dans nos expériences, pour la pesée des bacilles inoculés, sur les données de Calmette : 1 milligramme de bacilles prélevés d'une culture sur milieu solide contient 40 millions de bacilles.

I.

Expériences effectuées au moyen d'extraits pancréatiques d'oie sensibilisés par les corps bactériens chauffés (souche humaine) et les exotoxines totales du milieu de culture (Vaccin O. C.).

Toutes les inoculations (vaccinantes et d'épreuves) ont été effectuées par voie sous-cutanée sous le flanc gauche des animaux. Les bacilles tuberculeux étaient émulsionnés dans du sérum physiologique.

a) *Vaccination préventive au moyen d'une dose unique de vaccin.*

Expérience 1. — Dans le but de rechercher l'action immunisante de ce vaccin et la durée de l'immunité conférée par celui-ci nous avons utilisé deux séries de cobayes.

Les cobayes 5/a, 5/b, 6/a, 6/b ont reçu 10 cc. de vaccin. Les jours qui suivent l'inoculation, les animaux ne présentent rien d'anormal; dans la suite nous avons noté une augmentation de leur poids.

40 jours après l'inoculation le cobaye 5/a ainsi que le témoin reçoivent une injection sous-cutanée de 0,01 cgr. de bacille tuberculeux (souche humaine). Au bout de six semaines il présente un petit ganglion au point d'inoculation, qui disparaît ensuite dans la huitième semaine suivant l'inoculation d'épreuve. L'animal meurt 93 jours après l'inoculation d'épreuve. Au cours de sa maladie nous n'avons pas pu observer la formation d'un abcès, ni de chancre tuberculeux au point d'inoculation. A l'autopsie les poumons ont présenté quelques petits foyers tuberculeux, les autres organes étaient macroscopiquement indemnes.

Le témoin meurt 69 jours après l'inoculation et présente tous les symptômes d'une tuberculose généralisée.

Expérience 2. — Le cobaye 6/a est éprouvé 60 jours après l'injection vaccinant eau moyen de 0,01 cgr. de bacille humain. Un témoin reçoit à la même période une quantité identique de bacilles. Le cobaye 6/a meurt après 21 jours de tuberculose atypique avec un abcès au point d'inoculation. Le témoin meurt de tuberculose classique 41 jours après l'inoculation.

Les résultats obtenus au moyen de la seconde série d'animaux sont tout à fait comparables à ceux que nous avons obtenu au moyen de la première série.

b) *Vaccination préventive au moyen de doses répétées de vaccin.*

Expérience 3. — Les cobayes nº 7, 8, 9, 10 reçoivent six foix à des intervalles de trois semaines 7 cc. de vaccin. La résorption se fait assez vite, les animaux augmentent de poids.

Le cobaye 8 meurt pendant la vaccination : nous attribuons sa mort à une maladie du tube digestif constatable à l'autopsie.

18 jours après la dernière injection vaccinante les cobayes 7, 9, 10 reçoivent 0,00001 mgr. de bacilles tuberculeux humains vivants. Nous avons tuberculisé en même temps les témoins avec une quantité égale de bacilles tuberculeux vivants (souche humaine).

Le cobaye 7 a été éprouvé à la tuberculine au moyen de 0,25 cc. de celle-ci par voie sous-cutanée trois semaines après l'inoculation d'épreuve. Il a réagi par une hypothermie de l'ordre de 0,8º. 36 jours après l'inoculation d'épreuve l'animal meurt de pleurésie.

Le cobaye 9 a été également éprouvé à la tuberculine à la dose de 0,25 cc. 20 jours après l'inoculation d'épreuve : il a réagi par une hyperthermie ne dépassant pas 0,1º. 67 jours après la tuberculisation, il présente un petit abcès au point d'inoculation, mais celui-ci se ferme dans la suite. 150 jours après l'inoculation il se porte bien en apparence et garde son poids.

Le cobaye 10 présente 70 jours après l'inoculation d'épreuve un petit abcès au point d'inoculation qui se ferme

au bout d'une semaine et 110 jours après l'épreuve nous sacrifions l'animal afin de comparer son état pathologique avec celui d'un témoin tué en même temps. Les deux animaux présentent des lésions tuberculeuses.

Deux témoins meurent à la suite d'une tuberculino-réaction 21 jours après l'inoculation dans les 24 heures qui suivent l'injection de la tuberculine.

Les autres témoins commencent à diminuer de poids au cours du deuxième mois de la maladie : celle-ci évolue cependant ici très lentement et au moment où nous présentons ce travail ils sont encore en vie.

c) *Vaccination curative au moyen d'une dose unique de vaccin.*

Expérience 4. — Les cobayes n° 3/a et 3/b ainsi qu'un témoin ont reçu 0,0001 mgr. de bacilles tuberculeux humains vivants.

21 jours après l'inoculation les cobayes de la série 3 reçoivent 10 cc. de vaccin. Les animaux ont gardé leur poids mais meurent respectivement 137 à 149 jours après l'injection bactérienne. L'autopsie nous a révélé des petits foyers aux poumons et au foie.

Le témoin vit encore après 200 jours; il a fortement diminué et semble entrer dans le stade de cachexie tuberculeux. Tout en considérant l'individualité existant entre deux cobayes issus d'une même famille, ayant le même âge et le même poids, et les divergences différentes qui empêchent l'évolution strictement identique de la tuberculose expérimentale, nous nous croyons en droit de conclure de cette expérience que la dose de vaccination unique injectée dans un but curatif dans la troisième semaine de la maladie, loin d'exercer une action protectrice contre l'évolution de la tuberculose, accélère la marche de la tuberculose chronique et semble être comparable dans son effet à celui de la tuberculine injectée à dose unique et forte.

d) *Vaccination curative au moyen des doses répétées de vaccin.*

Expérience 5. — Le cobaye n° 1 ainsi que le témoin reçoivent 0,0001 mgr. de bacilles tuberculeux vivants.

Tableau des expériences effectuées au moyen de vaccin O. C .

(Extrait hydro-glycériné de pancréas d'oie + bacilles chauffés + exotoxines totales)

No de l'expérience	Mode de vaccination	TÉMOIN		COBAYES TRAITÉS					Symptômes de maladie à l'autopsie				REMARQUES
		Jour de la mort	Cause de mort	Numéro	Jour d'épreuve post	Jour d'épreuve pré	Dose injectée	Jour de la mort	poumon	abdomen	ganglions	abcès	
1	Préventive dose unique	69	Tuberculose généralisée	5/a	40	—	0,01 cgr.	93	+	—	—	—	Accoutumance légère
	»			5/b	40	—	»	96	+	—	—	—	Accoutumance légère
2	»	41	Tuberculose généralisée	6/a	60	—	»	21	atypique			+	Hypersensibilisé
	»			6/b	60	—	»	17	atypique			+	Hypersensibilisé
3	Préventive doses répétées à longs intervalles	21	A la suite d'une tuberculino-réaction sacrifié.	7	18	—	0,00001 mgr.	36	+	—	—	—	Activation par la tuberculine contenue dans le vaccin
	»	110	Tuberculose pulmonaire et hépatique	8	—	—	»	meurt avant l'épreuve	maladie intercurrente du tube digestif				
	»	2 animaux 21	A la suite d'une tuberculino-réaction	9	18	—	0,00001 mgr.	vit 150				+ puis —	Maladie évoluant lentement. Comparable au témoin : évolution chronique due à la faible dose d'épreuve
	»	130	vit	10	18	—	»	sacrifié 110	+	+	+	+	
4	Curative dose unique	180	»	3/a	—	21	0,0001 mgr.	137	+	+	+	—	
	»	vit 200		3/b	—	21	»	149	+	—	—	—	
5	Curative doses répétées à longs intervalles	198	»	1	—	21	»	225	+	—	—	—	

21 jours après le cobaye 1 reçoit la première injection vaccinante et nous continuons à injecter 7 cc. de vaccin six fois à des intervalles de trois semaines.

225 jours après la tuberculisation l'animal meurt en tuberculose pulmonaire sans chancre tuberculeux.

Le témoin meurt après 198 jours en tuberculose classique en présentant un abcès au point d'inoculation.

Cette expérience nous montre que le vaccin a conféré une survie peu prononcée et que la maladie s'est localisée aux poumons.

II.

Expériences effectuées au moyen d'extraits pancréatiques de poule, sensibilisés par les corps bactériens vivants (souche humaine) (vaccin P. V.).

A

Expériences sur la tuberculose expérimentale du cobaye due à l'inoculation d'une souche humaine.

a) *Vaccination préventive au moyen d'une dose unique de vaccin.*

Expérience 6. — Les cobayes nº 11/a, 11/b, 12/a, 12/b reçoivent 10 cc. de vaccin. Les animaux augmentent au début de poids. Le cobaye 11/b meurt 36 jours après l'inoculation. Les frottis effectués au moyen de divers organes et colorés par la méthode de Ziehl-Nielsen ne nous ont pas révélé la présence d'éléments acido-résistants.

Les cobayes 11/a, 12/a et 12/b ainsi que deux témoins sont éprouvés par 0,01 ctgr. de bacilles humains vivants. Les animaux traités étaient donc éprouvés 40 jours après l'injection vaccinante.

Les témoins meurent respectivement après 45 et 53 jours en présentant un abcès au point d'inoculation. Nous attribuons leur mort à une tuberculose généralisée.

Le cobaye 12/a survit le témoin d'un mois et ne présente pas de chancre tuberculeux au point d'inoculation, mais par contre il existe des foyers miliaires aux poumons.

Les cobayes 11 /a et 12 /b survivent à l'épreuve pendant 87, respectivement 93 jours. Ils présentent à l'autopsie de nombreux foyers pulmonaires de la grandeur d'une tête d'épingle.

b) *Vaccination préventive au moyen de doses répétées de vaccin.*

Expérience 7. — Les cobayes nº 13 et 14 reçoivent 7 cc. de vaccin à des intervalles de trois semaines; les inoculations sont répétées six fois. 10 jours après la dernière injection vaccinante ils reçoivent ainsi que deux témoins 0,1 ctgr. de bacilles tuberculeux vivant.

Le cobaye 13 meurt 104 jours après la première injection vaccinante (21 jours après l'inoculation d'épreuve). L'autopsie nous a montré l'intégrité des organes; le système lymphatique par contre était attaqué.

Le cobaye 14 vit 85 jours après l'inoculation d'épreuve et il est en bonne santé apparente.

Nous avons sacrifié un témoin le jour où le cobaye 13 a succombé : l'autopsie nous a révélé une tuberculose pulmonaire prononcée ainsi que plusieurs foyers au foie. Un chancre tuberculeux était visible au point d'inoculation.

c) *Vaccination curative au moyen de doses répétées de vaccin.*

Expérience 8. — Les cobayes nº 15 /a, 15 /b, 16 /a et 16 /b ainsi que quatre témoins reçoivent 0,0001 mgr. de bacilles tuberculeux vivants.

Les cobayes de la série 15 et 16 reçoivent, 13 jours après, la première injection vaccinante au moyen de 7 cc. de vaccin : les injections ont été répétées six fois à des intervalles de trois semaines.

Les témoins meurent dans une période de 169 à 186 jours après la tuberculisation en tuberculose généralisée et en présentant un chancre tuberculeux.

Le cobaye 16 /a meurt 81 jours après la tuberculisation : à l'autopsie nous n'avons pas constaté de lésions ni macroscopiquement, ni microscopiquement.

Les cobayes 15 /a, 15 /b et 16 /b vivent toujours 199 jours après la tuberculisation. Le cobaye 15 /a met bas deux fois et les petits sont en parfaite santé.

Nous pouvons donc déduire de cette expérience que curativement ce vaccin influence favorablement l'allure de la maladie à condition que la vaccination commence dès le début de la maladie.

d) *Vaccination préventive au moyen de doses répétées de vaccin pratiquées à trois jours d'intervalle.*

Expérience 9. — Vu que dans nos expériences précédentes les cobayes ont présenté à la suite des injections vaccinantes pratiquées à des intervalles de trois semaines les symptômes d'un choc anaphylactique, nous avons espéré éviter cet inconvénient en vaccinant les animaux à des intervalles de trois jours.

En effet, les animaux ont bien supporté ces injections, la résorption se faisant très vite et nous n'avons jamais observé de choc.

Les cobayes 23/a et 23/b reçoivent 2 cc. de vaccin à des intervalles de trois jours répétés 21 fois. Trois semaines après la dernière injection vaccinante ils reçoivent ainsi qu'un témoin 0,01 ctgr. de bacilles tuberculeux vivants.

Le cobaye 23/a meurt en 22 jours : à l'autopsie nous avons constaté l'intégrité des organes à l'exception des poumons qui baignaient dans une sérosité épaisse.

Nous avons sacrifié le témoin 22 jours après la tuberculisation et l'autopsie nous a révélé des lésions aux poumons, au foie et à la rate.

Le cobaye 23/b meurt 35 jours après l'épreuve, présentant des symptômes d'infiltration pleurales avec exsudat sanguinolent. Les poumons et le foie sont normaux, la rate est fortement hypertrophiée.

B

Expériences sur la tuberculose expérimentale du cobaye due à l'inoculation d'une souche bovine (VALLÉE).

a) *Vaccination curative au moyen de doses répétées de vaccin.*

Expérience 10. — Les cobayes n° 71 et 72 ainsi que deux témoins reçoivent 0,002 mgr. de bacille tuberculeux. Comme ces animaux avaient été destinés à une autre expé-

rience et que c'est seulement par un hasard que nous avons décidé de les traiter par ce vaccin, ils n'ont reçu la première injection vaccinante que 41 jours après la tuberculisation. A ce moment la fistulisation du chancre tuberculeux est commencée. Les cobayes 71 et 72 ont reçu 7 cc. de vaccin en remplaçant le sang prélevé préalablement par ponction cardiaque.

A la suite de cette injection nous avons observé un phénomène très curieux : la fermeture du chancre tuberculeux, la formation d'un épithélium cutané nouveau et en même temps les ganglions préexistants ont diminué de volume. Le poids est resté stationnaire et n'a commencé à fléchir qu'au bout de trois semaines après l'injection vaccinante. D'après Massol (91) le chancre tuberculeux livré à lui-même ne guérit jamais. Nous nous croyons donc en droit de conclure que la fermeture du chancre peut être attribuée uniquement à l'action curative de ce vaccin.

30 jours après la première injection vaccinante les mêmes cobayes reçoivent de nouveau 7 cc. de vaccin.

Le cobaye 71 meurt 75 jours après la tuberculisation : à l'autopsie nous avons constaté une tuberculose généralisée.

Histologiquement nous avons observé la sclérification des lésions : d'après F. Arloing (92), et P. Dufour, etc. la sclérose du cobaye est exceptionnelle.

Le cobaye 72 meurt 81 jours après la tuberculisation : à l'autopsie nous avons constaté une tuberculose généralisée à l'exception des poumons qui étaient en apparence indemnes. Histologiquement nous avons observé une réaction sclérogène.

Les témoins meurent respectivement 28 et 41 jours avant les deux animaux traités en tuberculose bovine classique.

Donc, en définitive, nous voyons que ce vaccin influence favorablement l'évolution clinique de la tuberculose expérimentale du cobaye due aux bacilles du type Vallée et que sous son action il se produit des phénomènes très rares : fermeture du chancre tuberculeux, la réaction sclérogène des tissus malades et la régression de l'adénopathie.

b) *Vaccination préventive au moyen de doses répétées de vaccin.*

Expérience 11. — Les cobayes 22/a et 22/b reçoivent 2 cc. de vaccin à des intervalles de trois jours répétés

Tableau des expériences effectuées au moyen de vaccin P. V.

(Extrait hydro-glycériné de pancréas de poule + bacilles vivants)

No de l'expérience	Mode de vaccination	TÉMOIN		COBAYES TRAITÉS					Lésions à l'autopsie				REMARQUES
		Jour de la mort	Cause de mort	Numéro	Jour d'épreuve post	Jour d'épreuve pré	Dose injectée	Jour de la mort	poumon	abdomen	ganglions	abcès	
6	Préventive dose unique	45	Tuberculose généralisée	11/a	40	—	0,01 ctgr.	87	+	—	+	—	
	»	53	»	11/b	—	—	meurt avant l'épreuve	36	—	—	—	—	Maladie intercurrente
				12/a	40	—	0,01 ctgr.	75	+	—	+	—	
				12/b	40	—	»	93	+	—	+	—	
7	Préventives doses répétées	21	Tuberculose généralisée	13	10	—	0,1 ctgr.	21	—	—	+	—	
				14	10	—	»	vit 85					Bonne santé en apparence
8	Curative, doses répétées à longs intervalles	169 186	Tuberculose généralisée »	15/a	—	13	0,001 mgr.	vit 199					Met bas deux fois: les jeunes sont en bonne santé en apparence
				15/b	—	13	»	vit 199					
				16/a	—	13	»	81	maladie intercurrente				Traitement à longue échéance par des bacilles modifiés et atténués, produisant une protection nette contre l'évolution de la tuberculose conférée expérimentalement.
				16/b	—	13	»	vit 199					
9	Préventives à doses répétées courts intervalles	22 sacrifié	Lésions pulmonaires, hépatiqu. spléniques	23/a	21	—	0,01 ctgr.	22	+	—	+	—	Tuberculose atypique consécutive à l'injection de bacilles atténués et modifiés renfermés dans le vaccin.
				23/b	21	—	»	35	+	—	+	—	
10	(Souche Vallée) Curative doses répétées, longs intervalles	47 40	Tuberculose généralisée »	71	—	41	0,002 mgr. souche Vallée	75	+	+	+	+	Survie notable, fermeture de l'abcès inguinal et la réaction sclérogène
				72	—	41		81	+	+	+	+	
11	(Vallée) Préventive, doses répétées à courts intervalles	46	Tuberculose généralisée	22/a	21	—	»	125	+	—	+	—	Survie encore plus prononcée que précédemment; protection du foie et de la rate
				22/b	21	—	»	140	+	—	+	—	

21 fois. Trois semaines après la dernière injection vaccinante ces animaux ainsi qu'un témoin reçoivent 0,002 ctgr. de bacilles tuberculeux vivants. Les cobayes vaccinés augmentent de poids et les ganglions qui ont existé sont disparus 46 jours après la tuberculisation.

Le cobaye témoin succombe avec les symptômes et lésions typiques d'une cachexie tuberculeuse.

Les deux cobayes vaccinés préventivement succombent avec un retard en comparaison avec les témoins de 89 respectivement 94 jours. Le foie et la rate ne sont pas lésés; par contre les poumons présentent des lésions miliaires.

III.

Expériences effectuées au moyen d'extraits pancréatiques de poule sensibilisés par les corps bactériens chauffés (souche humaine) (vaccin P. C.).

A

Expériences sur la tuberculose expérimentale du cobaye due à l'inoculation d'une souche humaine.

a) *Vaccination préventive au moyen de doses répétées de vaccin.*

Expérience 12. — Les cobayes n° 17 et 18 reçoivent à des intervalles de trois semaines 7 cc. de vaccin répété six fois.

41 jours après la dernière injection, ces animaux, ainsi qu'un témoin, sont inoculés au moyen de 0,01 ctgr. de bacilles tuberculeux vivants.

Le cobaye 18 meurt d'une maladie intercurrente sept jours après l'inoculation d'épreuve. Nous avons sacrifié son témoin le même jour et il a présenté à l'autopsie une tuberculose pulmonaire et hépatique. Le cobaye 17 meurt 88 jours après l'inoculation d'épreuve avec une tuberculose typique.

b) *Vaccination curative au moyen de doses répétées de vaccin.*

Expérience 13. — Les cobayes n° 19, 20, 21 sont tuberculisés ainsi que trois témoins au moyen de 0,01 ctgr. de

bacilles tuberculeux vivants. Le cobaye 19 reçoit trois jours après la tuberculisation 7 cc. de vaccin et dans la suite encore quatre injections de 7 cc. de vaccin à des intervalles de deux semaines. Le cobaye meurt 69 jours après la tuberculisation en présentant à l'autopsie une tuberculose peu typique des poumons et des reins.

Son témoin meurt le même jour en tuberculose classique.

Le cobaye 20 vacciné 12 jours après la tuberculisation vit encore 171 jours plus tard, se porte bien en apparence et garde son poids.

Le cobaye 21 vacciné à la même période que le cobaye 20 meurt en 79 jours sans abcès au point d'inoculation : le foie et la rate ainsi que le système lymphatique sont atteints, les poumons par contre ne sont pas lésés.

c) *Vaccination préventive au moyen de doses répétées de vaccin pratiquées à trois jours d'intervalle.*

Expérience 14. — Le cobaye 25 reçoit 21 fois 2 cc. de vaccin avec des intervalles de trois jours. Trois semaines après la dernière injection vaccinante ce cobaye traité ainsi qu'un témoin reçoivent 0,01 ctgr. de bacilles tuberculeux vivants.

Le cobaye traité meurt en 14 jours d'une maladie intercurrente : toutefois à l'autopsie nous avons constaté deux lésions du foie.

Le témoin est sacrifié et présente une tuberculose abdominale assez prononcée avec adénopathie des ganglions retro-lombaires et inguinaux. On note donc en comparaison avec le témoin un léger retard dans l'évolution de la maladie, si toutefois il est permis de tirer des conclusions de cette expérience intéressant seulement deux animaux.

B

Expériences sur la tuberculose expérimentale du cobaye due à l'inoculation d'une souche bovine (Vallée)

Vaccination préventive au moyen de doses répétées de vaccin.

Expérience 15. — Les cobayes 24/a et 24/b reçoivent 21 fois 2 cc. de vaccin à des intervalles de trois jours. Trois

Tableau des expériences effectuées au moyen de vaccin P. C.

(Extrait hydro-glycériné de pancréas de poule + bacilles chauffés)

No de l'expérience	Mode de vaccination	TÉMOIN		COBAYES TRAITÉS					Symptômes de maladie à l'autopsie				REMARQUES
		Jour de la mort	Cause de mort	Numéro	Jour d'épreuve post	Jour d'épreuve pré	Dose injectée	Jour de la mort	poumon	abdomen	ganglions	abcès	
12	Préventive, doses répétées	Sacrifié 7	Tuberculose pulmonaire et hépatique	17 18	41 41	— —	0,01 ctgr. »	88 7	— +	— +	— +	— —	Maladie intercurrente
13	Curative, doses répétées	69	Tuberculose généralisée	19	—	3	»	69	+	reins	—	—	Maladie atypique
				20	—	12	»	vit 171					
				21	—	12	»	79	—	+	+	—	
14	Préventive, doses répétées, courts intervalles	14	Tuberculose abdominale adénopathie	25	21	—	»	14	—	sur le foie 2 petits foyers	—	—	
15	(Vallée) Préventive, doses répétées, courts intervalles	52	Tuberculose généralisée	24/a	21	— —	0,01 ctgr. Vallée	72	+	—	+	—	
				24/b	21	—	»	106	—	—	—	—	Cachexie

semaines après la dernière injection les cobayes traités ainsi qu'un témoin reçoivent 0,01 ctgr. de bacilles tuberculeux du type bovin.

Le témoin présente des ganglions caractéristiques au bout de dix jours et il succombe après 52 jours en présentant à l'autopsie une tuberculose généralisée.

Les cobayes 24/a et 24/b augmentent de poids au début et les ganglions existants ont disparu le sixième jour de la maladie. Nous sacrifions le cobaye 24/a le 72e jour de sa maladie : l'autopsie nous révèle des lésions de caséification dans les poumons tandis que les organes abdominaux paraissent complètement épargnés par la bacillose.

L'animal 24/b meurt 106 jours après l'inoculation en état de cachexie tuberculeuse.

Conclusion

De ces expériences biologiques que nous venons d'énumérer nous nous permettrons de tirer les conclusions suivantes:

1° La vaccination au moyen de vaccin d'oie sensibilisée par des bactéries chauffées et renfermant en plus les exotoxines totales , c'est-à-dire des substances tuberculiniques contenues dans le milieu de culture, effectuée à titre préventif en doses uniques ou à doses répétées, nous a permis de constater une différence très peu sensible entre l'évolution de la maladie tuberculeuse chez le cobaye vacciné et les cobayes témoins. Ceci devient très manifeste dans l'expérience 3 où nous avons tuberculinisé les animaux avec des doses extrêmement faibles de bacilles virulents. En effet, les cobayes 9 et 10 présentaient les mêmes symptômes et les mêmes stades de la tuberculose que leurs témoins correspondants.

Si par contre nous expérimentons avec des doses très fortes de bacilles virulents, tel que nous l'avons fait dans les expériences 1 et 2, nous constatons pendant les premiers 40 jours, après un traitement préparatoire, l'installation d'une certaine accoutumance très peu sensible vis-à-vis de l'inoculation d'épreuve. Ceci est très probablement dû à l'installation d'une anaphylaxie active, qui, pendant la période latente, se manifeste par une certaine protection à l'égard

de l'injection déchaînante (inoculation de bacilles tuberculeux vivants et virulents). En traitant par une dose unique de vaccin préparé suivant la technique sus-mentionnée, nous avons, en effet, préparé nos animaux au moyen de haptène tuberculeux lié à des protéines spécifiques. Nous savons que ces substances, haptènes plus protéines quelconques préparent activement l'animal au choc anaphylactique et produisent d'autre part des anticorps. Nous avons pu constater au cours de nos expériences, que la période latente entre la dose préparante et la dose déchaînante est supérieure à 40 jours : mais après 60 jours nos animaux sont entrés dans la phase sensible de l'anaphylaxie active et, si à ce moment nous injectons des produits tuberculiniques toxiques renfermant des hydrates de carbone et des protéines ou les substances totales du bacille tuberculeux, nous produisons un choc anaphylactique. Ceci est pleinement en accord avec les expériences effectuées par ZINSSER; nous savons que la forme anaphylactique peut être engendrée indépendamment de l'infection tuberculeuse par injection de protéines bacillaires liées aux haptènes. La réaction spécifique de muscles lisses de l'utérus d'après la méthode de DALE ne devient ordinairement positive qu'après une période de trois semaines, quelquefois après six semaines. Ce temps a été atteint lors de notre expérience 2 où nous avons pratiqué l'injection d'épreuve après 60 jours et à la suite de cette inoculation tardive, nous assistons à une sensibilisation accrue de nos animaux qui succombent à cette épreuve dans le cours de deux à trois semaines de la maladie; donc avec une rapidité surprenante et avec des syptômes atypiques.

2° Les effets d'une vaccination curative employée dans les trois premières semaines de la maladie chez les cobayes tuberculeux, à faibles doses, sont à première vue discordants, si cette vaccination a été pratiquée à dose unique ou à doses répétées. Mais en réalité ces faits sont facilement explicables. Si nous considérons notre expérience 4, les conséquences d'une seule injection de vaccin le 25^{e} jour de la maladie sont à tout point de vue comparables à l'injection d'une forte dose de tuberculine. Les suites de cette injection ont pour résultat une activation de la maladie, une évolution plus rapide des lésions tuberculeuses localisées, accompagnées

d'inflammations focales et d'infiltrations exsudatives. Ce fait est très démonstratif dans notre expérience puisque les animaux témoins ont survécu plus d'un mois aux cobayes vaccinés et chez ces derniers nous avons pu constater une tuberculose généralisée que nous n'avons pas eu l'occasion d'observer chez les animaux traités préventivement avec le même vaccin.

Dans l'expérience 5 cet effet d'activation est aussi manifeste, mais il est amoindri à la suite des injections répétées de vaccin à plus faibles doses et l'installation d'une accoutumance passagère, qui d'ailleurs est démontrée par la localisation de la maladie sur les poumons.

3° Au cours de nos expériences, concernant l'influence de l'extrait pancréatique sur le bacille tuberculeux vivant effectué in vitro, nous avons eu l'occasion de démontrer que la bactérie exposée à ces conditions, subit des transformations de mutation que nous avons relaté antérieurement.

Ces faits sont prouvés par les expériences 6 et 7 que nous avons effectué in vivo. Il ressort de ces résultats obtenus avec une autre série d'animaux employée, que nous avons affaire avec des stades de mutation du bacille tuberculeux, à virulence fortement atténuée. L'effet de l'injection unique dans un but préventif de vaccin P. V. a pour suite de vacciner effectivement les cobayes, mais la survie peu prononcée réalisée par l'inoculation préventive de formes atténuées prouve que cette vaccination est d'une action peu durable.

Cette action immunisante devient cependant beaucoup plus manifeste dans l'expérience 7 où nous avons traité nos animaux par des doses vaccinantes répétées à longs intervalles. En effet, la dose excessivement forte de bacilles tuberculeux vivants et virulents inoculés à cette série d'animaux a été très bien supportée par un animal vacciné qui a survécu à l'épreuve jusqu'à présent, tandis que l'autre qui a succombé, a présenté un aspect anatomo-pathologique complètement atypique et sur lequel nous tenons à insister ici. A l'autopsie nous avons pu constater une réaction inflammatoire considérable de la plèvre avec une production d'exsudat très abondant. On note une polysérosité de sang, une adhérence très forte avec un tissu conjonctif dense qui

histologiquement démontre en abondance des cellules géantes et épithélioïdes. En même temps on observe une réaction fibro-vasculaire très intense sans aucun symptôme de caséification ou la formation des cavernes. Le poumon est macroscopiquement et microscopiquement exempt de lésions progressives histologiquement constatables : au contraire, on remarque une sclérification fibreuse très prononcée , signe de défense contre l'évolution infectieuse. D'autre part, la rate est fortement hypertrophiée, richement vascularisée avec une réaction folliculaire prononcée. Le foie et les autres organes abdominaux sont au contraire d'un aspect normal. Le système lymphatique est hypertrophié et principalement les ganglions inguinaux, rétro-lombaires et rétro-sternaux. La coloration spécifique au moyen de particules pathologiques broyées ou de suc ganglionnaire ne relève jamais le présence d'éléments bactériens : tout au plus peut-on trouver dans les ganglions inguinaux quelques rares éléments faiblement acido-résistants à aspect granuleux et réunis en petits amas. La culture sur les différents milieux habituels et spécifiques ne nous a jamais donné de résultats positifs à l'exception des hémocultures pratiquées au moyen de la méthode de Löwenstein; cette méthode nous a permis d'isoler des bacilles à propriétés acido-résistants qui, inoculés aux cobayes ont occasionné une tuberculose typique à évolution lente et fibreuse.

Si nous comparons ces phénomènes avec ceux décrits par Vaudremer (54) d'un côté, par Sanarelli et Alessandrini (93) de l'autre nous voyons la grande analogie qui existe entre l'image anatomo-pathologique et la survie, nettement accrue vis-à-vis des témoins, de nos animaux vaccinés, surtout à doses répétées, avec ceux des animaux infectés au moyen de l'ultra-virus tuberculeux.

En effet, l'existence de l'ultra-virus tuberculeux n'est pas douteuse aujourd'hui et tous ces phénomènes que nous avons mentionné plus haut ressemblent à l'image que présentent les animaux traités par l'ultra-virus. Les faits énoncés par Fontès se trouvent confirmés, à savoir qu'il existe un ultra-virus virulent et tuberculigène et qui occasionne chez les cobayes une tuberculose atypique avec des lésions localisées à un seul organe (poumons ou rate) et sans abcès tuberculeux au point d'inoculation.

Nous considérons que la résistance relative à l'inoculation d'épreuve pratiquée sur nos cobayes vaccinés est due en grande partie à la préexistence dans l'organisme de virus tuberculeux modifié, virus provenant des injections vaccinantes.

Boquet et Nègre (9) ont constaté le même phénomène à la suite d'un traitement antituberculeux expérimental au moyen de leur antigène.

Si nous comparons les résultats exprimés sur les tableaux de nos expériences on remarque la forte proportion de tuberculose pulmonaire localisée, chez nos animaux traités au moyen de nos différents vaccins.

Les mêmes faits ont d'ailleurs été observés par Vaudremer lors de l'étude de son vaccin obtenu à l'aide de culture mixte de bacilles tuberculeux et d'*Aspergillus fumigatus* dont nous avons donné un aperçu plus détaillé dans la partie historique de notre travail. Nous tenons à insister ici sur l'analogie de ces symptômes et voudrions attirer l'attention sur l'action protéolytique exercée par l'Aspergillus fumigatus sur les bacilles tuberculeux, faits tout à fait comparables à ceux de notre technique où nous apportons le ferment protéolytique dans la composition de nos vaccins par l'extrait pancréatique. Il semble donc que l'effet favorable produit par ces bactéries modifiées est dû à l'action dégradatrice de certains ferments protéolytiques à action spécifique. Quoi qu'il en soit, les bactéries mises en présence d'extraits pancréatiques ne sont nullement définitivement détruites et ce fait que nous avons constaté lors des expériences culturales in vitro est confirmé par les résultats de nos essais expérimentaux sur le cobaye.

4° Dans l'expérience 8 nous avons essayé l'effet curatif du vaccin renfermant les bacilles à l'état vivant qui n'ont pas subi l'action de la chaleur. Nous avons constaté que si nous traitons nos animaux à l'état précoce de la maladie, les injections répétées et espacées sur un long intervalle ont une action protectrice très prononcée, qui est à tout point de vue comparable aux résultats que nous avons relaté lors de l'expérience 7, c'est-à-dire une survie très marquée des animaux vaccinés vis-à-vis des témoins.

5° L'expérience 9 effectuée au moyen d'injections de vaccin P. V. pratiquées à très courts intervalles, employées par nous dans le but d'augmenter encore l'effet favorable constaté dans l'expérience précédente, nous a fortement déçu : en effet, nous avons cru, en évitant toute possibilité de sensibilisation vis-à-vis du vaccin, réaliser une immunisation réelle. Le raccourcissement de la période intermédiaire entre deux injections n'a pour résultat que de diminuer l'effet favorable de protection constaté dans l'expérience 6 où nous avons traité nos animaux avec une dose unique de vaccin. Ce moyen de traitement à courts intervalles revient au même que si nous avions opéré une injection unique de vaccin à concentration très élevée.

6° Nos expériences 10 et 11 ont été effectuées un peu par pur hasard; ayant eu plusieurs cobayes fortement tuberculisés avec la race bovine (souche Vallée) très virulente à une dose excessivement forte, ces cobayes ont été destinés à être employés pour l'obtention de sérum agglutinant. Vu la marche très rapide de la maladie et les énormes abcès que ces cobayes présentaient au point d'inoculation nous avons, après avoir prélevé par ponction du cœur 7 cc. de sang chez chacun, remplacé celui-ci par notre vaccin isotonique. L'effet de cette injection a été très surprenant comme on a pu le constater dans la description de notre expérience. En effet, comme on peut se rendre compte dans le protocole de notre expérience, ces animaux , au moment de l'injection vaccinante, étaient déjà entrés dans le stade cachectique et auraient dû succomber dans les huit jours après l'intervention. Ceci était effectivement le cas chez le seul témoin survivant, tandis que le deuxième avait déjà succombé à une tuberculose généralisée, le jour précédant le prélèvement du sang. La survie de quatre à cinq semaines de ces cobayes traités ne peut être en rapport direct qu'avec la vaccination effectuée au moyen d'un vaccin renfermant le bacille humain. Cette influence favorable devient encore plus manifeste dans notre expérience n° 11, où nous avons employé le même vaccin à titre préventif; ces essais ont été entrepris à la suite de l'encouragement provoqué par le succès de l'expérience précédente. Dans l'expérience 11 il nous a été alors donné de constater plus particulièrement les causes de cet effet

protecteur du vaccin sensibilisé au moyens de bacilles humains vis-à-vis des bacilles tuberculeux bovins (souche Vallée). Le vaccin injecté préventivement semble exercer sur les bactéries vivantes ou atténuées de la souche humaine une influence spécifique qui devient manifeste sur les organes abdominaux. Au moment de l'inoculation d'épreuve ceux-ci possèdent un pouvoir défensif très accusé, de sorte que le bacille bovin se fixant ordinairement tout d'abord sur la rate et le foie, ne semble pas pouvoir y exercer son action toxique et va se localiser dans l'organe le moins immunisé, en espèce dans les poumons. Nous avons vu, au cours de toutes ces expériences, que nos différents vaccins sensibilisés au moyen de la souche humaine n'avaient aucune action protectrice vis-à-vis des poumons, car tous ces animaux traités préventivement ou curativement, éprouvés ou non éprouvés par l'inoculation des bacilles virulents, ont toujours succombé avec des lésions pulmonaires ou pleurales.

7° Les expériences 12 et 14 effectuées au moyen d'un vaccin sensibilisé par les bacilles chauffés, sans exotoxines, nous montrent que ce vaccin employé préventivement n'a ni action favorable ni défavorable sur l'évolution de la tuberculose. S'il est permis de lire une survie peu prononcée dans le protocole concernant ces expériences, on pourrait rendre responsable de cet effet en apparence favorable les substances fortifiantes et catalytiques contenues dans notre extrait pancréatique, mais c'est tout ce qu'on peut tirer de ces expériences.

L'expérience 13 par contre nous montre que les injections répétées de ce vaccin dans un but curatif avaient occasionné une résistance relative aux cobayes traités en comparaison avec les cobayes témoins. Nous attribuons ce phénomène à une accoutumance passagère de l'organisme vis-à-vis des toxines tuberculeuses contenues dans le vaccin, qui peut être imputable à la lyse accrue des produits de désassimilation tuberculeux toxiques par les ferments protéolytiques et lipidiques renfermés de notre extrait pancréatique. Mais une action immunisante ne peut nullement être attribuée à ce vaccin ne renfermant que des substances protéiniques dégradées des bacilles tuberculeux chauffés.

8° L'expérience 15, effectuée avec le même vaccin, renfermant le bacille chauffé dépourvu d'exotoxine nous montre que les endotoxines dégradées du bacille tuberculeux de la souche humaine seules ont une action protectrice partielle sur le foie et la rate du cobaye. Car l'animal inoculé avec le type bovin est de toute façon, grâce à la préparation préalable plus résistant vis-à-vis de cette maladie que les animaux de l'expérience 14 rendus tuberculeux au moyen de la souche humaine. Toutefois cet effet immunisant est très relatif et s'efface vis-à-vis d'une dose d'épreuve de bacilles virulents massifs.

CHAPITRE IX

Considérations préliminaires.

Le bacille tuberculeux a été l'objet de nombreuses études ayant eu pour but d'analyser sa constitution chimique et d'isoler à l'état de pureté plus ou moins absolu les différentes substances endo- ou exogènes apparaissant au cours de sa culture. Nous avons eu l'occasion de parler de ces travaux dans notre chapitre traitant l'historique.

Parmi ces constituants, certains ont un pouvoir antigène plus ou moins prononcé. Nous ne mentionnerons que la tuberculine brute, la tuberculine spéciale T. A. C. préparée par Momose (94), l'antigène *peptoné* ou antigène B 2 de Calmette et Massol (77), l'antigène à l'œuf de Besredka (77) et l'extrait méthylique de Boquet et Nègre (9).

D'autres substances du bacille tuberculeux ont des propriétés toxiques très particulières et extrêmement prononcées. Parmi ces dernières nous citons la bacillo-caséine, une paranucléo-albumine caractérisée par Auclair et Paris (5), la tuberculosamine, une nucléoprotéine isolée par Ruppel (74) et l'acide tuberculinique du même auteur.

Ce n'est qu'en approfondissant nos connaissances sur ces antigènes et sur ces substances toxiques du bacille de Koch que nous pouvons progresser dans la thérapeutique tuberculeuse.

Ceci est prouvé par les effets très favorables qu'on obtient par la vaccination préventive au moyen du bacille de Calmette et Guérin (55) ; cette souche, appelée *B. C. G.*, quoique complètement avirulente possède encore toutes les propriétés toxiques et toutes les aptitudes à produire de la tuberculine des souches virulentes, telles que la bovine de Vallée ou une humaine dite de Jacob d'après les expériences de Borrel, Boez et Coulon (95). Malgré son avirulence cette

souche est une génératrice d'anticorps antituberculeux par excellence. Mais tout en étant un antigène remarquable le B. C. G. semble dépourvu de tout pouvoir anaphylactogène.

Sous ce terme anaphylactogène Dœrr (82) comprend des antigènes anaphylactiques et dit que jusqu'à présent il a été impossible de préparer ces corps ne donnant pas des réactions spécifiques des antigènes protéiniques (réaction d'immunité). C'est dans ces phénomènes que réside la différence entre les toxines bactériennes types, telles que la toxine diphtéritique ou la toxine tétanique et les toxines du bacille tuberculeux. Nous savons qu'il n'a pas été possible jusqu'à nos jours de reproduire au moyen des toxines bactériennes type, diphtéritique ou tétanique, les symptômes fondamentaux de l'anaphylaxie, car la réaction anatoxique de la diphtérie chez l'homme n'est nullement en rapport avec la teneur en anti-toxine du sang.

En partant du bacille tuberculeux on n'a jamais réussi à préparer des toxines agissant uniquement comme antigène et dépourvues de propriétés anaphylactiques. Il est certain que nous avons affaire chez le bacille de Koch avec toute une série d'antigènes et la nature de ceux-ci, qui tous contiennent des substances protéiniques, diffère essentiellement par la structure du noyau protéinique et aussi par le corps ou les corps chimiques combinés à cette protéine.

L'exactitude de cette manière de voir a été prouvée au moyen des antigènes de Forssmann (96), qui sont des extraits alcooliques de différents organes animaux, par exemple l'extrait splénique du cheval. Ces antigènes fixent in vitro les anticorps hétérogénétiques, mais injectés à l'animal (lapin) ils ne produisent pas d'anticorps. Nous avons donc affaire à des corps munis de tout pouvoir fixateur mais dépourvus de pouvoir immunisateur; pour ces raisons Landsteiner (78) leur a donné le nom de *Haptène*.

Landsteiner, X. Meyer, Wernicke (97) ont tout d'abord cru avoir affaire à des substances lipidiques, puisqu'elles sont contenues dans les extraits alcooliques. Mais des travaux plus récents de Landsteiner, d'Avery et Heidelberger ont montré qu'il s'agit de substances appartenant aux polysaccharides.

Ces haptènes mis en contact avec un sérum hétérogène ou des extraits bactériens reprennent les propriétés d'un antigène total, c'est-à-dire que par immunisation au moyen de mélange semblable, préparé in vitro, on parvient à produire des anticorps spécifiques pour l'haptène chez le lapin. Il faut, pour fixer les idées, retenir les faits suivants : les haptènes seuls fixent des anticorps spécifiques mais n'en produisent pas. Les haptènes seuls provoquent chez l'animal préparé le phénomène du choc anaphylactique. Les haptènes seuls ne sensibilisent pas activement l'animal au choc anaphylactique.

Il semble donc que le problème d'une immunisation contre les infections dues aux endotoxines bactériennes a fait un grand pas en avant à la suite de ces constatations concernant les phénomènes d'allergie et d'anaphylaxie. De récents travaux américains (Avery Lancefield) ont mis en évidence qu'on peut artificiellement préparer des antigènes spécifiques en combinant le glucose ou son isomère avec des protéines différentes. Au moyen de l'antigène total obtenu par cette manipulation, on peut réaliser des expériences d'anaphylaxie caractéristiques. Le glucose acquiert donc dans ces recherches la nature d'une haptène et l'antigène ainsi préparé réagira avec toute albumine contenant le même haptène.

Nous ne connaissons pas encore le processus intime de cette réactivation de l'haptène pour devenir antigène total, mais il est sûrement établi que l'haptène et l'antigène protéique employé comme activateur, conservent dans les mélanges préparés in vitro chacun son individualité. L'immunisation au moyen de ces combinaisons donne donc naissance à deux sortes d'anticorps nettement différenciés l'un de l'autre et chacun d'eux entre en réaction seulement avec son complément respectif, c.-à-d. soit avec l'haptène, soit avec l'antigène protéique. (Landsteiner et Simms, Doerr et Hallauer, Sachs).

En plus, Tomcsik et Kurotschkin (83) ont pu, par leurs expériences, démontrer l'existence d'une anaphylaxie vraie contre les bactéries. Mais, pour réaliser ces épreuves, les auteurs n'ont pas eu recours aux extraits bactériens totaux à action toxique très prononcée, ils employèrent par contre des produits chimiques ne donnant plus de réaction albumi-

nique, mais renfermant en forte proportion des hydrates de carbone. Il faut donc admettre que les haptènes existent à l'état natif dans les bactéries et ils sont très probablement fixés sur les protéines bactériennes.

Tous ces travaux nous apportent des considérations nouvelles sur le rôle de l'allergie et de l'anaphylaxie dans les maladies infectieuses et nous citons à ce sujet l'opinion de Doerr (82) : de quelle façon les recherches nouvelles dirigées dans le sens des résultats de Tomcsik seront appelées à modifier les opinions opposées sur les relations entre l'anaphylaxie et l'infection, nous ne le pouvons pas encore prévoir. Mais de toute façon ces faits nouveaux sont aptes à orienter la question de l'allergie infectieuse (hypersensibilité de l'organisme infecté contre la tuberculine, abortine, malléine, sporotrichine, etc.). Si l'existence d'anticorps fixes comme cause de l'hypersensibilité tuberculinique et des réactions analogues n'est pas définitivement prouvée, elle est cependant très probable et cette hypothèse est renforcée par la présence d'anticorps libres dans le sérum.

Il n'est nullement douteux que la marche naturelle d'une infection tuberculeuse conduit ou peut conduire à la production d'un état d'anaphylaxie active à tout point de vue typique.

La conception admise jusqu'à présent que l'anaphylaxie contre les protéines tuberculeuses et l'hypersensibilité tuberculinique représentent deux facteurs bien différents et distincts de l'infection tuberculeuse, est donc fortement mise en doute. Nous voudrions simplement retenir que si les phénomènes évolutifs de la tuberculose n'étaient pas d'ordre anaphylactique strict, ils en ont pourtant une grande ressemblance et une thérapie efficace devrait être orientée vers le but de stabiliser ou de supprimer complètement les symptômes anaphylactoïdes, dont le siège est situé dans l'organe malade même et est intimement lié à la cellule animale et non dans le tissu humoral.

Ceci ne peut être réalisé que par un traitement au moyen des haptènes du bacille tuberculeux préparés à l'état de pureté et exempts de substances protéiques toxiques chez l'animal infecté, en empêchant ainsi la propagation de l'infection par l'action antianaphylactique des haptènes tel que Avery et son école ont pu le démontrer.

Qu'un traitement basé sur ces principes peut être efficace et conduire à une immunisation réelle, semble ressortir déjà par des travaux antérieurs aux nôtres.

Si VAUDREMER (54) a enregistré des effets curatifs très importants par sa bactériothérapie, ne doit-on pas faire entrer ici en ligne de compte les facteurs ci-dessus relatés ? L'auteur emploie une culture de bacilles tuberculeux contaminée par un surensemencement au moyen de *l'Aspergillus fumigatus*. Mais cet organisme nous est connu comme producteur de ferments protéolytiques très actif. Les albumoses, les albumines, globulines et paranucléoalbumine ne doivent-ils pas subir l'action de ces enzymes ? Donc le vaccin bacillaire de VAUDREMER n'est autre chose qu'une émulsion de substances bacillaires dégradées renfermant des haptènes et des matières quaternaires à poids moléculaire faible.

Si d'autre part AUCLAIR (64) a pu constater des résultats très satisfaisants contre la tuberculose expérimentale au moyen de son vaccin pancréatique sensibilisé, résultats favorables que nous n'avons malheureusement pas pu confirmer dans toute leur ampleur, n'est-il pas aussi évident qu'il s'agit du même phénomène ? Les bacilles tuberculeux mis en contact avec l'extrait pancréatique ont sûrement subi la même dégradation protéinique et le vaccin finalement utilisé peut-il être autre chose qu'un mélange des haptènes tuberculeux, d'acides aminés et des traces de deuteroalbumose, avec les ferments et les produits minéraux catalyseurs de l'extrait pancréatique même.

Si dans notre historique nous avons pu relater des résultats plus favorables obtenus par ARLOING, THEVENOT et JOVERAUD en ajoutant à leur extrait pulmonaire de poule du tapioca d'un côté et ceux de BRUSCHETTINI de l'autre, en combinant son émulsion non résorbable d'extrait bacillaire chloroformique et de poudre de quartz à la farine de banane, ne devrions nous pas rapporter ces effets favorables aux produits hydrocarbonés surajoutés, dont le pouvoir d'haptène est aujourd'hui définitivement démontré ?

Si l'antigène de BOQUET et NÈGRE est actif contre la tuberculose c'est qu'il renferme des haptènes lipidiques et probablement aussi des polysaccharides en présence d'une

petite quantité d'albumine toxique. Il ne semble donc pas douteux, en considérant ces faits, que les haptènes et principalement les polysaccharides tuberculiniques amèneront la thérapie contre la tuberculose vers le succès.

Par contre, en essayant de guérir la tuberculose au moyen de substances contenant les albumines toxiques du bacille de Koch, nous n'arriverons qu'à des résultats inférieurs et d'autant plus mauvais que la quantité d'albumine spécifique et anaphylactique présente sera plus concentrée.

Pour vacciner contre la tuberculose il faut combiner les haptènes spécifiques purifiés autant que possible avec des protéines non spécifiques, parce que ces corps constitueront des antigènes et réagiront avec toute albumine contenant les mêmes haptènes et nous créerons de cette façon, comme nous l'avons exposé plus haut, des facteurs défensifs spécifiques pour l'haptène tuberculeux, sans occasionner des phénomènes anaphylactiques.

Partant de ce principe et afin de séparer autant que possible toute trace d'albumine toxique spécifique d'une part et d'éviter de l'autre toute réaction anaphylactique ou précipitante chez l'animal tuberculeux ou chez l'animal sain traité préventivement, nous avons, en nous basant sur les résultats obtenus au cours de la première partie de notre travail et sur celle mentionnée par Auclair, conservé le mode opératoire indiqué antérieurement pour réaliser la préparation de nos haptènes tuberculeux. Mais au lieu d'employer des pancréas de poule ou d'oie nous avons fixé notre choix sur les pancréas de mouton qui devait à tout point de vue répondre aux conditions exigées, c'est-à-dire celles posées par Auclair: pancréas d'un animal réfractaire au plus haut degré vis à vis du bacille tuberculeux humain (Calmette (77)); et celles posées par nous antérieurement (pouvoir protéolytique). De plus, la difficulté d'obtenir des pancréas de poule ou d'oie à l'état frais est très grande, même dans un pays comme Strasbourg, universellement renommé pour ses pâtés de foie gras d'oie; par conséquent nous avons eu recours au pancréas de mouton et nous verrons que les résultats n'en sont pas moins bons que ceux obtenus en partant de pancréas d'oiseaux.

D'autre part, afin de réaliser le problème que nous nous sommes tracé, nous avons effectué la fixation des antigènes sur les anticorps in vitro, précipitant ainsi au moyen d'un sérum spécifique antituberculeux en même temps les corps tuberculeux et albumineux toxiques renfermés dans notre vaccin sensibilisé. Ce sérum spécifique a été obtenu en sensibilisant des cobayes. Nous nous sommes adressé spécialement à cet animal, parce que nous avons ensuite effectué nos expériences à l'aide de ces animaux et en employant du sérum autogénérique on évite les facteurs anaphylactiques. Qu'une grande partie des anticorps préexistants a été ainsi déviée in vitro, ceci ne pouvait nullement diminuer la valeur de notre préparation, car nous n'avions pas l'intention d'expérimenter des « *sérums dits antituberculeux* » dont la valeur thérapeutique a été reconnue comme peu prononcée, étant donné que les quelques sérums actifs agissent uniquement par la présence de traces de substance tuberculinique. On sait d'ailleurs que les sérums qui sont les plus riches en anticorps hâtent souvent l'évolution de la maladie au lieu de la retarder. Ces effets résultent, d'après Calmette et Guérin (77), du fait qu'ils mobilisent les bacilles dans l'organisme et déterminent en partie l'expulsion de ceux-ci par la voie hépatico-intestinale. Cela aurait donc été justement opposé au principe thérapeutique que nous avons voulu réaliser. Pour ces raisons nous avons utilisé les sérums de cobaye préparés spécialement et renfermant uniquement des anticorps et dépourvus d'inhibitrice. Ce sérum a été pour chaque expérience préalablement dosé et ne devait fournir que 475 à 550 unités d'anticorps par centimètre cube au titrage effectué d'après la technique de Calmette et Massol.

Technique de préparation de notre séro-vaccin sensibilisé.

La préparation de notre séro-vaccin se base donc sur l'incorporation d'une partie des antigènes (haptènes) et de sérum autogénérique renfermant une proportion titrée d'anticorps. En plus, ce mélange thérapeutique renfermait naturellement les éléments nutritifs et catalytiques contenus de facto dans le pancréas de mouton. Partant de ce principe nous avons préparé un extrait hydroglycériné du pancréas

de mouton en employant les méthodes exposées lors de la description de la préparation de l'extrait de pancréas d'oie. En outre, nous avons centrifugé une culture liquide de bacille de Koch âgée de quatre semaines. A une partie de l'extrait pancréatique de mouton nous avons ajouté une quantité de bacilles tués à l'autoclave correspondant à 10% exprimés en poids et pesés à l'état humide. Le liquide de centrifugation concentré au vide sulfurique a été d'autre part ajouté au mélange dans la proportion de 10%. Le ballon contenant l'extrait pancréatique, les bacilles tuberculeux et le milieu de culture concentré a été placé à l'étuve à + 37° où il a séjourné pendant 15 jours. Après ce temps nous avons filtré le contenu du ballon à travers une toile stérilisée. Cette filtration a été effectuée sous la cloche à vide.

Au bout de ces 15 jours, avant d'utiliser cet extrait pancréatique sensibilisé, nous avons, sur une partie de ce produit, pratiqué les réactions spécifiques des matières protéiques, c'est-à-dire que nous avons au moyen du réactif de Tanret d'un côté, au moyen de la réaction de Ninhydrine de l'autre recherché la disparition des molécules quaternaires organiques. Ces analyses ont été contrôlées préalablement par des dosages suivant la technique de Sörensen (formol-titration) afin de saisir au fur et à mesure la dégradation successive des matières albuminoïdiques à poids moléculaire élevé vers le stade acides aminés. Notre vaccin sensibilisé ainsi obtenu n'a jamais été employé avant la réaction négative de la *Ninhydrine*; à ce moment nous avons la certitude que toute trace d'albumine toxique avait disparue dans notre solution qui ne devait renfermer que les substances hydrocarbonées spécifiques du bacille tuberculeux.

D'autre part, pour l'obtention d'un sérum antituberculeux nous avons utilisé la technique suivante : Nous avons inoculé au moyen de souches bovines ou humaines des cobayes par voie intrapéritonéale avec une dose de bacilles de Koch de 0,0001 milligrammes. 15 jours après nous avons traité les animaux par voie sous-cutanée au moyen de tuberculine. Les premières injections étaient faites à la dose de 1/2500. milligrammes de tuberculine; ces injections ont été répétées ensuite tous les deux jours à des doses progressivement croissantes jusqu'à 0,5 gr. de tuberculine par injection.

A ce moment nous avons encore pratiqué deux piqûres à l'aide d'une émulsion bacillaire (BE de Koch) renfermant deux ou trois milligrammes de bacilles tuberculeux émulsionnés dans un sérum physiologique. Les animaux ont supporté ce traitement sans réaction appréciable et ont accusé une accoutumance très prononcée contre la tuberculine. Les injections sous-cutanées ont été chaque fois très bien résorbées et nous n'avons jamais constaté la production d'un abcès. Des titrages préalables effectués sur le sérum de cobaye à des périodes différentes du traitement nous ont montré que la plus forte teneur du sérum en anticorps était obtenue dans le courant de la deuxième et troisième semaine après la dernière injection de l'émulsion bacillaire. Et celle-ci était ordinairement pratiquée dans la sixième à la huitième semaine de la maladie. Les cobayes laissés en repos pendant un temps plus long que 3 semaines après la dernière injection, fournissent un sang qui devient progressivement de moins en moins riche en anticorps.

Les dosages ont été effectués au moyen de la méthode de Calmette et Massol ; en comparaison avec un sang témoin provenant d'un animal neuf, comme antigène nous avons employé l'extrait méthylique de Boquet et Nègre. Comme nous l'avons dit antérieurement, nous avons toujours utilisé des sérums qui fournissaient entre 475 et 550 unités en centimètres cubes. Ces sérums étaient pour chaque expérience obtenus extemporanément par ponction du cœur d'un cobaye préparé. Le sérum a été alors ajouté à notre vaccin dans le but que nous avons exposé plus haut. Les mélanges ainsi obtenus ont été placés pendant 12 heures à l'étuve à + 37° et après ce repos nous avons contrôlé l'agglutination totale des bacilles tuberculeux renfermés dans notre vaccin, et après une centrifugation de deux heures nous avons obtenu notre vaccin sensibilisé dont on a chaque fois titré la valeur d'antigène et contrôlé l'absence de toxalbumines bacillaires par la technique indiquée plus haut. L'absence du bacille de Koch a été vérifiée par l'examen microscopique et nous avons pratiqué de temps en temps des inoculations d'épreuves sur des animaux neufs, mais dans aucun cas nous n'avons pu constater la présence d'éléments virulents ou toxiques occasionnant des troubles tuberculiniques chez le cobaye.

C'est au moyen de ce séro-vaccin sensibilisé et précipité que nous avons effectué nos expériences ultérieures. La préparation était apte à être conservée dans la glacière et dans ce cas nous avons, au moment de l'emploi, ajouté une seconde fois du sérum antituberculeux dans la proportion de 5/1.

Dans le but de simplifier nos expériences et en considérant les résultats obtenus dans la première partie de notre travail où nous avions pu constater une influence protectrice plus favorable exercée par les vaccins sensibilisés au moyen de la souche humaine, contre la tuberculose bovine du cobaye et l'effet semblable du vaccin bovin contre la tuberculose humaine, nous avons, dans les expériences ayant trait à ce chapitre, employé un mélange à parties égales de vaccin pancréatique sensibilisé au moyen du bacille humain et de vaccin sensibilisé au moyen d'une souche bovine. La même technique a été utilisée pour les sérums antituberculeux qui provenaient soit de cobayes tuberculisés avec une souche Vallée, soit des cobayes rendus malades avec une souche humaine de virulence expérimentalement établie.

Vaccinations préventives au moyen de doses répétées de séro-vaccin sensibilisé.

Expérience 16. — Les cobayes nº 65, 66, 67, 68, 69 et 70 reçoivent 2 cc. de séro-vaccin à des intervalles de trois jours à partir du 14 janvier 1931. Les injections ont été répétées 21 fois. 14 jours après la dernière piqûre vaccinante, donc le 3 avril, les cobayes ainsi préparés sont divisés en deux lots. Trois d'entre eux sont tuberculisés au moyen de 0,0001 milligramme de bacilles de Koch (culture standard de Vallée), les trois autres reçoivent par voie sous-cutanée la même dose de bacilles, mais ceux-ci sont issus de notre souche humaine. En même temps nous avons rendu tuberculeux quatre cobayes neufs qui devaient servir de témoin; deux ont été éprouvés par la souche bovine et deux par la souche humaine.

Dans les deux expériences les animaux témoins ont présenté des symptômes classiques de la tuberculose du cobaye avec adénopathie et chancre ouvert au point d'inoculation. Ils ont succombé entre le 49e et le 66e jour de la

maladie. Nous n'insisterons pas sur le tableau clinique et l'examen histopathologique de ces animaux, qui avaient succombé avec des lésions typiques de tuberculose caséifiante. Mais les prélèvements effectués au niveau des différentes lésions des organes infectés et du système lymphatique montraient la présence de nombreux bacilles tuberculeux qui, par l'examen microscopique direct et par la culture sur milieu de LÖWENSTEIN, répondait à la forme classique et initiale des souches bactériennes employées.

Les six cobayes traités préventivement au moyen de notre séro-vaccin ont tous survécu aux témoins; le 15 juin, donc 15 jours après la mort du dernier témoin, nous avons sacrifié un cobaye vacciné de chaque série. Les quatre autres animaux, que nous avons laissé en vie afin de nous rendre compte de la durée de leur survie, vivent encore aujourd'hui et deux d'entre eux ont depuis donné le jour respectivement à trois et quatre jeunes, viables et en pleine santé.

A l'autopsie les deux cobayes tués montraient un abcès inguinal encore fermé contenant une très petite trace de pus caséeux. Il existait une hypertrophie des ganglions inguinaux et rétro-lombaires. Quant aux lésions des organes viscéraux nous n'avions pas pu constater une différence entre la maladie du type bovin et celle du type humain. Les rares foyers rencontrés dans la rate, le foie et les poumons appartenaient à un type fibreux cirrhotique très spécial. La caséification est très réduite. Le poumon est le siège d'une inflammation avec abondance de cellules épithélioïdes et de rares cellules migratrices. Dans le foie ces éléments de caséification sont aussi très peu abondants. On trouve surtout des placards de cellules épithélioïdes et de rares cellules géantes, entourés d'une coque de sclérose relativement épaisse et la formation de néocanalicules biliaires. Dans la rate nous constatons les mêmes phénomènes de sclérification avec des zones à aspect infarctoïde,

Les prélèvements que nous avons effectué au niveau de l'abcès inguinal et par ponction du ganglion inguinal ont été employés pour la confection de frottis colorés par la méthode de ZIEHL-NIELSEN et pour la réinoculation de cobayes neufs. Par la coloration nous avons microscopiquement pu mettre en évidence un type bacillaire très spécial à

forme grêle et à tendance très marquée vers la perte de l'acido-résistance, rappelant ainsi l'aspect des bacilles observés en culture sur milieu renfermant le vaccin pancréatique sensibilisé. La réinoculation est restée négative chez deux cobayes jusqu'à présent, donc six semaines après l'injection d'épreuve.

Vaccination curative au moyen de doses répétées de séro-vaccin sensibilisé.

Expérience 17. — Les cobayes n° 73, 74 et 75 reçoivent le 12 janvier 1931 par voie sous-cutanée 0,0001 milligramme de bacilles tuberculeux du type Vallée. En même temps deux cobayes témoins sont inoculés avec la même dose de bacilles.

D'autre part, les cobayes n° 76, 77 et 78 sont tuberculisés le même jour et par la même technique à l'aide de 0,0001 milligramme de bacilles de Koch du type humain. Ici aussi nous ajoutons à la série des animaux destinés à un traitement curatif deux cobayes témoins exposés aux mêmes conditions à l'exception du traitement vaccinant.

Les cobayes n° 73, 74, 75 et 76, 77, 78 ont reçu la première injection vaccinante trois jours après la tuberculisation à la dose de 2 cc. de vaccin. Les injections ont été répétées 21 fois à des intervalles de trois jours.

Les témoins des deux séries en expérience ont encore succombé dans un délai variant entre 47 et 72 jours de la maladie avec des lésions caséifiées et les symptômes de tuberculose bovine ou humaine.

Le cobaye n° 76 est mort le 42e jour après l'inoculation à la suite d'une maladie intercurrente consécutive à la grossesse.

Les cobayes n° 75 et 77 ayant été les plus faibles dans chaque série, ont été sacrifiés le 92e jour de la maladie, donc 20 jours après la mort du dernier témoin, afin de servir de terme de comparaison pour établir nos conclusions. Les trois autres animaux de ces deux séries vivent encore ce jour et

semblent en parfaite santé. Le poids des six animaux est exprimé dans le tableau suivant (en grammes) :

N°	12 janvier	12 mars	12 avril	12 juin	2 juillet
73	365	340	360	370	395
74	383	345	365	400	480
75	325	310	310	—	—
76	390	445(22.2.)	—	—	—
77	350	345	360	—	—
78	405	370	380	410	465

Chez les deux cobayes n° 75 et 77 les lésions dues à l'infection tuberculeuse avaient encore un aspect et une localisation identiques. Dans les poumons nous avons pu trouver microscopiquement de très rares lésions à structure atypique de granulome tuberculeux. Ces foyers sont simplement entourés d'une coque de sclérose épaisse avec une infiltration leucocytaire peu prononcée. On constate en outre des zones de scléroses interstitielles avec un épithélium pulmonaire à l'état cubique et une sclérose péri-vasculaire ou péri-bronchique.

Dans le foie on note encore quelques foyers tuberculoïdes microscopiques avec un centre constitué par des débris nécrotiques. Mais la persistance de la chromatine à l'état basophile différencie ce processus nettement de la caséification. Dans la région péri-portale on remarque des zones plus calcaires ou le parenchyme hépatique a disparu et a été remplacé par un tissu conjonctif jeune renfermant de nombreux néocanalicules biliaires et par une infiltration très prononcée de mononucléaires. Cet aspect rappelle un peu celui de certains ictères graves de la pathologie humaine.

Ce phénomène est beaucoup plus prononcé chez le cobaye tuberculisé par la souche bovine que chez celui inoculé au moyen de type humain, mais en résumé on ne constate aucune lésion typique chez les deux cobayes et ce sont surtout des lésions à aspect particulier témoignant d'une affection toxique déjà ancienne et en grande partie définitivement sclérifiée. Dans la rate on ne constate aucune lésion typique de tuberculose; chez le cobaye n° 75 on note quelques foyers diffus de nécrose hémorragique, mais l'absence de cellules

géantes et d'éléments épithélioïdes prouve que ces lésions sont sûrement en rapport indirect avec l'infection tuberculeuse.

La recherche des bacilles de Koch par l'examen direct ou cultural dans les prélèvements effectués au niveau des différents organes lésés est constamment restée négative. L'absence de ganglions hypertrophiés au moment de la mort des deux cobayes ne nous a pas permis d'effectuer une ponction ganglionnaire afin d'obtenir du matériel bactérien pur. Les inoculations pratiquées sur des cobayes neufs au moyen de trituration des organes viscéraux dans du sérum physiologique sont restées infructueuses. Les deux cobayes réinoculés au moyen de ces émulsions présentaient dans la première huitaine après l'injection un fort œdème au niveau de l'injection, mais cette infiltration s'est résorbée peu à peu sans aucune suite et nous n'avons jamais pu constater l'apparition d'une adénopathie.

Conclusions.

De cette dernière expérience au moyen de notre séro-vaccin sensibilisé nous nous croyons en droit de tirer la conclusion suivante: le séro-vaccin employé à titre préventif chez les cobayes a occasionné une survie très notable de nos animaux en comparaison avec les témoins et leurs a conféré une résistance irréfutable vis-à-vis de l'infection tuberculeuse. Cette vaccination n'a cependant pas occasionné une immunisation réelle contre le bacille tuberculeux. Mais nous assistons à une stabilisation certaine contre le processus infectueux qui se manifeste surtout dans l'évolution et la marche de la tuberculose humaine et de la tuberculose bovine.

Le traitement curatif au moyen de notre séro-vaccin semble avoir un effet protecteur beaucoup plus prononcé que celui obtenu par un traitement préventif. La survie notable de nos animaux tuberculisés traités, leur courbe de poids, le tableau clinique et histopathologique des animaux tués , la résorption progressive des ganglions inguinaux et l'absence de foyer local au niveau de l'inoculation primitive, sont la preuve d'une résistance manifeste qui est à tout point

de vue comparable à celle obtenue par des vaccinations préventives à l'aide du bacille avirulent tel que le B. C. G. ou le virus filtrant d'Arloing, Dufour et Dechaume.

En effet, l'absence d'hypertrophie lymphatique, les lésions inflammatoires chroniques avec une sclérose très dense dans les parenchymes pulmonaires et hépathiques, l'évolution des rares lésions tuberculeuses vers un type essentiellement fibreux parlent nettement en faveur de cette conclusion.

De tous ces faits expérimentaux particulièrement frappants il semble résulter par la forme exceptionnellement fibreuse et sclérifiée des lésions que l'infection tuberculeuse chez les cobayes de nos deux séries d'animaux (rappelant étroitement les modifications de l'évolution tuberculeuse expérimentale due à l'infection préalablement conférée par le bacille avirulent ou l'ultra-virus), doit être indiscutablement attribué à l'effet de la vaccination préventive ou curative au moyen de notre séro-vaccin sensibilisé et privé de toxalbumine.

Ceci nous paraît d'autant plus probable que nous avons pu suivre in vivo et in vitro sous l'influence de l'extrait pancréatique, l'évolution des formes acido-résistantes vers des formes atypiques non acido-résistantes, rappelant étroitement les propriétés de colorabilité et de virulence des cultures involuées de Vaudremer.

CONCLUSIONS GENÉRALES

Nous étant appuyé sur les expériences antérieures d'AUCLAIR nous avons expérimenté l'influence des extraits pancréatiques sur l'évolution du bacille tuberculeux in vitro et in vivo.

A) Expériences in vitro :

1° Ayant été dans l'impossibilité d'obtenir des données exactes et détaillées sur la préparation du vaccin d'AUCLAIR, nous avons été amené à étudier tout d'abord la préparation et la composition des vaccins pancréatiques. Il nous a été donné de préparer des vaccins sensibilisés en partant de pancréas de différents oiseaux et de mouton. Ces préparations ont été d'une conservation facile et d'un effet thérapeutique constant.

2° Au cours de nos recherches nous avons pu constater qu'un chauffage de courte durée au bain-marie ne permettait pas de supprimer la toxicité du bacille tuberculeux.

3° Ces bacilles chauffés ou les bacilles virulents mis en contact avec l'extrait pancréatique d'oiseaux ou de mouton ont produit in vivo un effet à tout point de vue semblable sur l'animal neuf.

4° Les bacilles tuberculeux vivants mis en contact avec les extraits pancréatiques ont subi l'action des ferments protéolytiques et lipidiques provenant des pancréas et ont évolué vers des formes mycosiques en massues, ramifiés et filamenteux. Ces éléments myco-bactériens ont été cultivables sur milieu de jus de pomme de terre maltosé ou sur milieu de SABOURAUD gélosé. D'autre part, la mutation des souches de bacilles tuberculeux employés a pu être poursuivie vers l'apparition de formes arthrosporées et granuleuses et vers des autres formes privées de leur propriété acido-résistante.

Ces constatations sont en accord avec celles de VAUDREMER, MUCH, FERRAN et d'autres.

5° Les extraits pancréatiques mis en contact avec la tuberculine ont occasionné une modification de cette substance qui se manifestait par la perte du pouvoir thermogénétique et du pouvoir activant focal de la tuberculine chez le cobaye infecté. Ce changement est dû à la dégradation des produits toxalbuminiques contenus dans la tuberculine, comme nous avons pu le mettre en évidence.

6° Le vaccin pancréatique sensibilisé a été examiné au point de vue de son pouvoir anticomplémentaire et de sa valeur d'antigène en comparaison avec l'antigène méthylique de BOQUET et NÈGRE. Notre vaccin O. C. à la dilution de 1/5 remplace l'antigène méthylique de BOQUET et NÈGRE au 1/20, et son pouvoir anticomplémentaire à cette dilution est nulle.

7° L'hémoculture du bacille tuberculeux au moyen de la technique et du milieu indiqué par LÖWENSTEIN nous a donné un résultat positif soit chez des cobayes tuberculisés au moyen de souche virulente, soit chez des cobayes ayant été vaccinés à l'aide de notre vaccin sensibilisé par les bactéries vivantes.

B) Expériences in vivo :

1° L'extrait pancréatique employé sans sensibilisation préalable par une souche de bacilles tuberculeux n'a montré chez les cobayes tuberculeux ni action vaccinante préventive ni curative.

2° Nos expériences effectuées au moyen de différents vaccins pancréatiques sensibilisés par les bacilles tuberculeux chauffés ou vivants nous ont donné des résultats beaucoup moins nets et favorables que ceux indiqués par AUCLAIR. L'effet protecteur que nous avons pu constater au cours de ces expériences semble uniquement dû à l'existence dans le vaccin soit de bacilles tuberculeux encore vivants mais nettement atténués, soit à des substances toxalbuminiques présents dans les vaccins fraîchement préparés ou de courte conservation.

3° Dans le dernier chapitre nous avons relaté nos expériences biologiques effectuées au moyen de séro-vaccin sensibilisé dans le but de rechercher son action préventive ou curative sur la tuberculose expérimentale du cobaye. Les effets favorables que nous avons obtenu peuvent être attribués à la présence (apportée par notre technique de préparation) de *haptènes spécifiques* dépourvus de pouvoir sensibilisant. En effet, nous avons constaté la disparition dans notre vaccin des produits protéiniques à poids moléculaire élevé responsable du phénomène anaphylactique. En traitant les animaux par ce produit contenant les haptènes et le sérum autogénérique antituberculeux nous avons réalisé une stabilisation humorale des valeurs antigénétiques et l'absence de la production des symptômes anaphylactiques focaux des tissus lésés. Ces faits sont nettement prouvés par les résultats de nos expériences, nous ayant montré un effet protecteur plus prononcé chez les animaux traités curativement que chez ceux traités préventivement.

Le vaccin pancréatique de mouton, sensibilisé au moyen de bacilles tuberculeux de souche humaine et bovine, précipité et titré au moyen de sérum antituberculeux autogénérique est apte, d'après les résultats favorables que nous avons constaté dans la tuberculose expérimentale, à amener un progrès réel et stable dans la thérapeutique antituberculeuse.

NOTES BIBLIOGRAPHIQUES

52 ARIMA (R.). — *Zeitschr. f. Tuberk.*, 1924. 41. 165. 1925. 42. 275.

43 ARLOING (S.). — Acad. des Sciences. 1906. 142. 1395-1487. 149. 962.

56 ARLOING (F.), L. THEVENOT et A. JOVERAUD. — *Soc. Biol. Lyon.* Tentatives d'augmentation de la résistance du cobaye traité par des extraits de poumon à l'égard de l'infection par des bacilles tuberculeux normaux ou macérés dans ces extraits. *Compte rendu Soc. Biol.*, t. XCVIII, p. 595.

92 ARLOING (F.) et DUFOUR. — *Bulletin de l'Inst. Pasteur.* 1929, p. 860.

60 ARMAND-DELILLE (P.-F.). — *Revue Tuberc.*, t. IX, 1928, p. 256.

64 AUCLAIR (J.). — Vaccination préventive et curative du cobaye et du lapin contre la tuberculose humaine. Ses indications et ses effets chez l'homme. Masson et Cie, éditeurs, Paris 1930.

5 AUCLAIR. — Etude expérimentale sur les poisons du bacille tuberculeux humain. *Thèse Méd. Paris* 1897.

5 AUCLAIR et PARIS. — *Bull. de la Soc. d'études scientifiques sur la tuberculose ;* 2e série, avril 1911.

85 AVERY (Oswald)-GŒBLE (Walter). — Chemo-immunological studies of conjugated carbo-hydrate protéine. *The J. of exp. Med. New-York* 1930, p. 600.

88 BAIL. — Ueberempfindlichkeit bei tuberkulosen Tieren. *Wiener Klin. Wochenschr.* 1905, Nr. 46.

21 BARTEL (J.). — Voir CALMETTE, 55.

40 Behring (V.). — Die Jennerisation als Mittel zur Bekämpfung der Rindertubekulose in der Beitrage zur Frage der Rindertuberkuloseimmunisierung. *Beitr. z. exp. Ther., Berlin*, 1905, H. 10.

77 Besredka. — Voir Calmette, 77.

58 Bonnamour et Delore. — Soc. Biol. Lyon, 1928. II. 20. in *C. R. Soc. Biol.*, t. XCVIII, p. 598.

9 Boquet et Nègre. — Antigenothérapie de la tuberculose par les extraits méthyliques de bacilles de Koch. Masson et Cie, Paris, 1927.

95 Borrel, Boez et Coulon. — *Ann. Inst. Past.* 37, déc. 1923, p. 1012.

49 Bruschettini. — Centr. f. Bakt. 1909. 50. 7.

24 Calmette-Maurice Breton. — *Annal. de l'Inst. Pasteur.* 21. 1907, p. 413.

36 Calmette-Guérin. — Voir Calmette, 55.

55 Calmette. — La vaccination préventive contre la tuberculose par le B. C. G. Masson et Cie, éditeurs, Paris 1927.

77 Calmette. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux. Masson et Cie, 1928.

89 Calmette, Nègre-Boquet. — Manuel technique de Microbiologie et Sérologie. Masson et Cie, Paris 1926.

39 Cavagnis, Gransher. — Voir Calmette, 55.

77 Coulaud. — Voir Calmette, 77.

69 Dayet (A. A.) et William-M. Gibbs. — The action of pancreatie juice on bacteria. *Journ. Inf. Dis.* 1930, janvier, p. 26.

28 Deykhe et Much. — Centr. f. Bakt. 1910. 54. 342.

35 — *Munch. med. Wochenschrift* 1913, 60, 119-190.

16 Di Donna. — Voir Calmette, 25.

82 Dœrr. — Allergie und Anaphylaxie Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Band I, 1927. Gustave Fischer, Urban und Schwarzenberg. Jena, Berlin u. Wien.

37 Dreyer (G.). — *British Journ. of experim. Path.* 1923. 4. 146.

44 Fadyean (Mac.), Sheather (Eduard) et Minet. — *Journ, of Comparat. Path. and Therapy* 1913, 26. 327.

53 Ferran (J.). — Soc. Biol. 1913. 74. 21.

22 Fontès. — Voir Calmette, 55.

96 Forssmann. — Der Ursprung des anaphylaktischen Scockes. *Biol. Zeitschr.* 1920. Bd. 110. S. 133. Ebenda : 1920. Bd. 110. S. 164.

46 Friedmann. — *Deutsch. Med. Wochenschrift.* 1903. 29. 953. 1904. 166. 1673.

1 Goris. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1920, XXXIV, p. 497.

86 *Hagers Handbuch der Pharmaceutischen Praxis.* Verlag von J. Springer, Berlin, 1927, t. II, p. 1384.

57 Hanns (A.). — Influence de l'administration de thyroïdine sur la tuberculose expérimentale. Soc. Biol. Strasbourg. 7. XII. 1927 in *C. R. Soc. Biol.*, t.XCVIII p. 598.

68 Henriot et Camus. — Sur le dosage de la lipase. *C. R. Ac. Sc.* 1879, CXXIV, p. 235.

17 Henry (Victor) et Madame. — Voir Calmette, 28.

74 Hopkins. — *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1930.

61 Howard (J.-W.). — Soc. Argentino de Biol. Section de Buenos-Ayres. 8. V. 1930, p. 1028.

75 Jousset. — Acad. de Médecine 1914, 71. 752.

42 Klimmer. — *Zeitschr. für Tiermed.* 1908. 12. 81.

41 Koch, Schütz, Weenfeld. — Loc. cit., voir Calmette, 55.

72 Koch (Robert). — *Deutsche Med. Wochenschrift* 1897. 23. 209. 1901. 27. 829.

4 Krause (Allen). — Cellular or Tissue Immunity to Tuberculosis and its Relation to the Pathology of T. B. C. Nat. Assu. Study Prev. Tuberc. 1916, p. 253.

73 Kühne. — *Zeitschr. f. Biol.* 1892. 29. 26.

84 Lancefield (R. C.). — Anaphylaxis with two non-types specific fractions and with the type-specific substance of streptococcus haemolyticus. *J. of. expr. med.* 1928. Bd. 47. S. 843-857.

78 Landsteiner. — Production of hetero genetic antigen bodis with mixture of bindung part of the antigen and. protein. *J. of Experimental Pathologie New-York* 1923, p. 127.

97 Landsteiner, K. Muller et Wernicke. — Wirken Lipoide als Antigene. Iber Imm. Forsch. 1910. 1. Abt. Bd. 6. 209.

14 Langer. — *Deutsch. Med. Wochenschrift* 1921. 51. p. 513.

30 Lévy, F. Blumenthal, F. Marxner. — Centr. f. Bakt. 1906. 42. 465.
— dº — 1908, 46. 278.
— dº — 1908. 47. 289.

31 Lindenmann. — Centr. für Bakt. 1914. 74. 624.

20 Livierato. — Voir Calmette, 55.

2 Lobstein (E.). — Recherches biochimiques sur le bacille tuberculeux. *Thèse Doct. ès Sciences* 1922. Strasbourg.

3 Löwenstein. — Tuberkuloseimmunität. *Hdb. d. path. Mikroorgan.* Kolle-Wassermann, 1928. Bd. 5. Teil II. Gustave Fischer, Urban und Schwarzenberg. Berlin-Wien.

85 Löwenstein (E.). — Die Methodik der Reinkultur von Tuberkelbazillen aus dem Blute. *Deutsche Med.* Wochenschrift, Bd. 56, p. 1010.

11 Lœffler et Matsda. — *Deutsche Med. Wochenschrift* 1913. 39. p. 1025.

19 Lœffler. — *Deutsche Med. Wochenschr.* 1906, Nº 1.

78 Long (E.) et Siebert (F.). — *Amer. Rev. of Tuberculosis* 1926. 13.393-448.

59 Lopo de Carvalho et Ferreira de Mira (fils). — Soc. port. Biol. 1928. in *C. R. Soc. Biol.*, t. XCVIII, p. 989.

38 Maffuci. — Voir Calmette, 55.

12 Maragliano. — Congrès de Médecine interne de Padoue 1903.

91 Massol. — Voir Rouge, 8.

7 Metchnikoff (S.). — Ueber die Ursachen der Immunität der Bienenmotte (Galeria Malonella) gegen Tuberkulose. *Biochemische Zeitschr.*, Berlin 1906. Band 2.

87 Miller. — A Study of the toxie proporties of tuberculoproteines and polysaccarids. *Journ. of Experimental Pathologie New-York* 1931, p. 51.

45 Mœller (A.). — *Lehrbuch der Lungentuber.* Verlag J. F. Bergmann-Wiesbaden 1910, p. 213.

94 Momose. — Voir Calmette, 77.

23 Moussue et Goupil. — Voir Calmette, 55.

76 Mueller Howard. — *Journ. exp. med.* 1926. 43, 1-9.

65 Musculus et V. Mehring. — Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogen durch Diastas pancreas, Speichel u. Leberferm. *Zeitschrift für physiol. Chemie* 1879. II., p. 403.

27 Noguschi, (H.). — *Zentralblatt f. Bakt.* 1909. 52. 85.

71 Nordwestdeutsche Tuberkulosetagung und Tagung der Deutschen Forschungsanstalt für Tuberkulose, Hamburg, 7-8 VIII. 1930. *Deutsche Med. Wochenschrift*, 1930, N° 37, p. 1593.

65 Oppenheimer (C.). — Die Fermente und ihre Wirkungen, 1913, p. 15.

6 Prudden et Hodenpyl. — *Revue Médicale de la Suisse Romande*, 1908, 20. IV.

32 Rabinovits (L.). — Voir Calmette, 55.

26 Rappin (Nantes). — Soc. de Biol. 1909. 66. 410.
— Acad. d. Scienc. 1909. 149. 408.
— d° 1917. 164. 421.

13 Raw (Nathan). — Practionner 1922, avril. 1. *Britich. Med. Journ.* 1925, IV., p. 741.

48 Rodet (A.) et Garnier. — Soc. de Biol. 1903, 55. 1109-1112.

8 Rouge (Dr.). — *Revue Med. de la Suisse Romande.* La tuberculose et les vaccinations antituberculeuses. 1908. 24.

34 Ruch (Karl von). — *Journ. of the Americ. Med. assoc.* 1912. 18 mai.

74 Ruppel. — *Zeitschrift fûr physiol. Chemie* 1898. 26. 218. Behrings Beiträge zur exp. Therapie 1900, fasc. 4, p. 89.

90 Sahli (Berne). — Ueber Tuberkulinbehandlung, Basel, Schwabe, 1913.

29 Salimbeni. — Voir Calmette, 55.

93 Sanarelli (G.) et Alessandrini (A.). — Démonstration in vivo de l'ultravirus tuberculeux. *C. R. de S. de la Soc. de Biol.*, t. CVI, Nº 6, 1931, p. 426.

96 Sartory (A), Scheffler (L). — Opothérapie en clinique. Le français édit. 1921,

67 Schaeffer (J.). — Les ferments; 1929. Masson et Cie, éditeurs, Paris.

80 Schiller (I.). — Sur l'antagonisme provoqué. — Bactéries protéolytiques et bacilles de Koch. Soc. de Biol. Séance 15. XI. 1930.

18 Schrötter (H.). — Voir Calmette, 55.

79 Seibert (F.). — The evidence that the active principale is a proteine Tubercule. *Am. Rew. of Tb.* 1924. 9. 215.

51 K. Shiga. – Kitasato's Archives of Experimental Medecine 1917. 1. 17. 157.
1919. 3. 235.

10 Smith (Theobald). — *Journ. of Med. Reseach*, 1908. 18. fasc. 3.

83 Tomcsik (J.) u. Kurotschkin. — On the role of carbonhydrate Haptens in bacterial anaphylaxis. *Journ. of exp. med.* 1928. Bd. 47. S. 379.

62 Tomor (E.). — Le traitement endocrinien de la tuberculose. *Schweizerische Med. Wochenschr.* II. 22. 1950.

15 Uhlenhuth (P.). — *Deutsche Med. Wochenschrift* 1927. 49. p. 1197.

33 — *Deutsche Med. Wochenschrift* 1923. 49. 1197.

25 Vallée (H.). — *Annal. de l'Inst. Pasteur*, 23. 1909 p. 598.

50 — *Acad. des Sciences* 1924. 178. 152.

47 Vallée (H.) et Guignard (Louis). — *Acad. de Sciences* 1910, 150. 1140.

54 Vaudremer (M.) — *Communication à la Soc. de Méd. et de Pharm. de Toulouse*, par le Dr. Parcé. Editions de la *Gazette Médicale de France*, 60, rue de Babylone (Paris).

70 Vuillemin (Paul). — Les champignons et les mycoses de l'homme. Paul Sechevalier et fils, éditeurs, 1931.

81 Zinsser (H.). — Infection and resistance, 3. Aufl., New-York, 1923.

TABLE DE MATIÈRES

Page

Introduction 1

Historique 5

Recherches personnelles 15

Chapitre I. — Description de la technique employée pour la préparation de vaccins O. C.; P. V., P. C., de nos extraits pancréatiques et les milieux de cultures employés 17

Chapitre II. — L'exposé de recherches relatives aux ferments et aux examens microscopiques et culturaux effectués au moyen de nos vaccins 21

Chapitre III. — L'action de nos vaccins sur les bacilles tuberculeux humains in vitro et in vivo ainsi que l'action de la chaleur humide sur les bacilles tuberculeux 27

Chapitre IV. — L'étude de l'action de notre vaccin O. C. sur la tuberculine brute de Koch in vitro et in vivo 29

Chapitre V. — La réaction de Calmette-Massol (déviation du complément) effectuée au moyen de notre vaccin O. C. La détermination de la valeur antigénique de notre même vaccin 35

Chapitre VI. — L'obtention de l'hémoculture tuberculeuse selon la méthode de Löwenstein 39

Chapitre VII. — L'action des extraits pancréatiques (de l'oie, de la poule) sur la tuberculose expérimentale du cobaye .. 41

Chapitre VIII. — Actions préventives et curatives de nos vaccins endocriniens simples sur la tuberculose expérimentale du cobaye 43

Chapitre IX. — Description de la préparation de notre séro-vaccin sensibilisé et les expériences biologiques effectuées sur ce séro-vaccin 61

Conclusions générales 77

Notes bibliographiques 81

Table des matières 89

Vu :
Strasbourg, le 9 juillet 1931
Le Président du Jury,
A. SARTORY

Vu et approuvé :
Strasbourg, le 9 juillet 1931
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
F. JADIN

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 15 juillet 1931
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,
Ch. PFISTER

Imprimerie des Dernières Nouvelles de Strasbourg